

**Über die Thermolabilität der
Katalase verschiedener Bakterienarten**

Erika Böhm

Druck: Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 22 17 77

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. H. SCHWIEGK

ÜBER DIE THERMOLABILITÄT DER KATALASE VERSCHIEDENER
BAKTERIENARTEN



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Erika Böhm
aus München

München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Privat-Dozent Dr. W. LANG
1. Correferent:	Professor Dr. H. SCHWIEGK
2. Correferent:	Professor Dr. J. HEISS
Dekan:	Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 6. 1959

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung über Aufbau und Aufbau	7
II. Bedeutung der Forschungsergebnisse über Zellstoffwechsel im Tierreich	8
III. Die chemische Natur der Katalase	14
IV. Die Bildung MEINEN LIEBEN ELTERN	15
V. Vorlesung IN DANKBARKEIT GEWIDMET	18
VI. Bedeutung im Zellstoffwechsel und Wirkung von Katalase	22
VII. Chemische und physikalische Einflüsse auf die Katalase	30
VIII. Die Wirkung der eigenen Vorkenntnisse und Erklärung der Rolle der aufgeführten Überlebensformen	35
IX. Bedeutung der Vorkenntnisse	36
X. Zusammenfassung	38
XI. Literaturverzeichnis	39

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Geschichtliches über Katalase und Peroxydase	7
II. Bisherige Forschungsergebnisse über Bakterienkatalase im Speziellen	8
III. Die chemische Natur der Katalase	14
IV. Die Bildung der Katalase	16
V. Vorkommen der Katalase	16
VI. Bedeutung im Zellstoffwechsel und Wirkungsme- chanismus	17
VII. Chemische und mechanische Einflüsse auf die Kata- laseaktivität	19
VIII. Beschreibung der eigenen Versuche und Erklärung an Hand der aufgeführten Übersichtskurven	23
IX. Diskussion der Versuchsergebnisse	74
X. Zusammenfassung	78
XI. Literaturverzeichnis	79

I. GESCHICHTLICHES ÜBER KATALASE UND PEROXYDASE

Als *Katalase* wird ein Enzym bezeichnet, das Wasserstoffsuperoxyd in Wasser und Sauerstoff zerlegt. *Peroxydase*n sind Enzyme, welche den Sauerstoff von Peroxyden auf Akzeptoren, z.B. Phenole übertragen.

Im Jahre 1811 entdeckte THENARD das Wasserstoffsuperoxyd und machte bald darauf die Beobachtung, dass Fibrin und tierische Gewebe (Lungen-, Nieren-, Milz- und Hautgewebe) in der Lage sind, diesen Stoff zu zersetzen. SCHÖNBEIN befasste sich im Anschluss daran näher mit dieser Frage und stellte fest, dass nahezu alle tierischen und pflanzlichen Gewebe Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen vermögen. Seine Folgerung, dass diese Fähigkeit allen Fermenten generell zukomme, wurde von JACOBSEN 1892 widerlegt. Er bewies durch eine Reihe von Experimenten, dass ein spezifisches Enzym für die Spaltung von Wasserstoffsuperoxyd verantwortlich ist. 1901 gelang es dann LOEW, dieses Enzym erstmalig zu isolieren. Er gab ihm den Namen *Katalase*. Durch eingehende Versuche an Katalase verschiedener Tabaksarten gelang es LOEW, die Individualität des Enzyms experimentell zu begründen. In den folgenden Jahren berichteten WOLFF, STOECKLIN, WAENTIG und GIERISCH über Versuche der Reindarstellung von Katalase. Bei letzteren Autoren finden sich zum ersten Mal Andeutungen über die Proteinnatur des Enzyms. Weiterhin wurde dann Katalase von SUMNER und DOUNCE aus Ochsenleber, Niere und Erythrocyten kristallisiert. Diese Methode der Darstellung wurde in der Folgezeit von einer Reihe anderer Autoren modifiziert angewandt und beschrieben. Im Jahre 1913 stellten dann ZEILE und HELLSTRÖM Katalase auf Pferdeleber frei von Hämoglobin dar und zeigten die Häminnatur des Enzyms. Sie stellten die Vermutung auf, Katalase sei ein Eisenporphyrinderivat (Eisen-Porphyrin-Eiweissverbindung).

Ein der Katalase in seiner Wirkungsweise sehr ähnliches Enzym ist die *P e r o x y d a s e*. Die Peroxydasereaktion - Bläuung von Guajatinktur durch Wasserstoffsuperoxyd, wenn tierische oder pflanzliche Gewebe zugesetzt werden - wurde 1855 ebenfalls von SCHÖNBEIN beschrieben. Der Name wurde 1898 von LINOSSIER vorgeschlagen.

Die beiden Fermente sind, was chemische Natur und Wirkungsmechanismus betrifft, einander sehr ähnlich, weshalb THEORELL sie unter dem Namen *H y d r o p e r o x y d a s e n* zusammenfasste.

II. BISHERIGE FORSCHUNGSERGEBNISSE ÜBER BAKTERIENKATALASE IM SPEZIELLEN

Eine Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch Mikroorganismen wurde erstmalig im Jahre 1893 von GOTTSTEIN beobachtet und beschrieben. Er stellte dieselbe Reaktion auch bei Versuchen mit abgetöteten Bakterien fest, glaubte jedoch nicht an ein in den Bakterien vorhandenes Zell-enzym.

Im selben Jahr fand BEIJERINCK, dass bei Kulturen von Milchsäurebakterien, selbst nach Neutralisation der Säure mit CaCO_2 keine Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd stattfand und schlug diesen Befund als geeignete Methode zur Diagnostizierung dieser Bakterienart vor.

Im Jahre 1894 wies DIEUDONNÉ in Kulturen aerober Bakterien unter Lichteinwirkung die Bildung einer oxydierenden Substanz nach und vermutete, dass es sich dabei um Wasserstoffsuperoxyd handle.

Die Zersetzung von H_2O_2 durch einen Extrakt aus *Mycobacterium tuberculosis*, die 1897 von HAHN beobachtet wurde, war vermutlich anderen Ursprungs, da, wie wir heute wissen, *Mycobact. tub.* kaum messbare Katalasemengen besitzt.

1903 wies LÖWENSTEIN in sterilen Filtraten von Diphtheriebazillen und Staphylokokken Katalase nach.

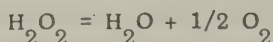
SELIGMANN beobachtete 1905, dass die Katalaseaktivität von mit Formalin vorbehandelter Milch grösser war als die frischer Milch. Er vermutete einen selektiv schädlichen Einfluss des Formalins auf die Milchsäurebakterien und daraus resultierende günstigere Wachstumsbedingungen für die katalaseaktiven Bakterien. Er isolierte sehr katalaseaktive Kokken.

Die ersten systematischen Untersuchungen über die Katalaseaktivität verschiedener Bakterienstämme wurden 1906 von ORLA - JENSEN beschrieben, die den Ursprung der in der Milch gefundenen Katalase zu erforschen versuchten. Es wurden 30 verschiedene Bakterienstämme untersucht, wobei *Proteus vulgaris* die höchste Katalaseaktivität aufwies, während bei Milchsäurebakterien keine messbare Menge des Enzyms festzustellen war. Die angewandte gas-volumetrische Methode war nur unvollkommen.

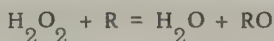
D. und M. RYWOSZ fanden 1907, dass anaerobe Bakterien die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu spalten, fast völlig entbehren und folgerten daraus, dass diese Mikroorganismen in ihrem Stoffwechsel kein H_2O_2 produzieren und deshalb keine Katalase benötigen. Eine andere Versuchsreihe zeigte, dass die aeroben Vibrionen praktisch ohne Katalase sind. Die Ergebnisse vergleichender Versuche über 21 verschiedene Stämme stehen im Einklang mit LOEW's Theorie über die Funktion der Katalase. 1908 begann JORNS eingehende Studien über Bakterienkatalase, zu deren Bestimmung er sich der Titriermethode mit Kaliumpermanganat bediente. Beim Erhitzen einer Kultur von *Serratia marcescens* auf $60^{\circ} - 70^{\circ} C$ stellte er fest, dass nach Überimpfen zwar kein Wachstum mehr stattfand, jedoch noch eine starke Katalaseaktivität vorhanden war. Eine Zerstörung der Katalase erzielte er erst bei Erhitzen auf $70^{\circ} C$ für eine Zeitdauer von 30 Minuten. JORNS untersuchte nun die Katalaseaktivität einer Reihe verschiedener, in Bouillon gezüchteter Bakterien, legte aber die Ergebnisse vorerst nur in groben Zügen fest. Später arbeitete er eine exaktere Bestimmungsmethode aus, indem er die in einer bestimmten Zeit zersetzte Menge Wasserstoffsuperoxyd zahlenmässig erfasste. JORNS unterschied zwischen Endo- und Ektokatalase, wobei er zur Differenzierung die Katalaseaktivität einer Bouillonkultur und einer entsprechenden Menge von Filtrat derselben Kultur bestimmte.

Der Titrationsmethode bedienten sich auch ROSENTHAL und BAMBERGER (1913). Die Versuche sind jedoch auf Grund irriger Schlussfolgerungen ohne Wert.

Die Hypothese von LOEW, nämlich dass die Katalase die Aufgabe habe, den Organismus gegen schädliche Einflüsse zu schützen, wurde gefestigt durch die WIELAND'sche Dehydrierungstheorie, die für die enzymatische Leistung der Katalase in der Zelle nur die Funktion der Wasserstoffsperoxydspaltung nach der Gleichung



vorsieht. Mit ihrer Forderung der Entstehung von Wasserstoffsperoxyd als primäres Oxydationsprodukt des Substratwasserstoffs schafft sie die theoretische Voraussetzung für die Möglichkeit der katalatischen Reaktion. WIELAND erklärt die Hemmwirkung der Blausäure auf die Atmung als Hemmung der Katalase, sodass sich der zunehmende Wasserstoffsperoxyd-Überschuss schädigend auf die Atemfunktion auswirken könne. 1915 suchte SPIRO nach der Natur der schädigenden Wirkung des H_2O_2 auf Bakterien. Seiner Meinung nach beruht die Wirkung nicht auf der blossen Entwicklung von Sauerstoff aus H_2O_2 , sondern auf einer direkten Oxydation:



Eine Reihe von Experimenten sollte beweisen, ob Katalase diese Art von Oxydation hemmen und somit das Bakterium gegen die Giftwirkung schützen könne. Er fand, dass unter geeigneten Bedingungen die langsame Oxydation von Kaliumjodid durch H_2O_2 durch Zufügen von Katalase gehemmt werden könne. JACOBY veröffentlichte 1918 seine Forschungsergebnisse über die Katalasebildung von *Proteus vulgaris*. Er beschrieb ferner eine Methode zur Isolierung von Katalase durch Fällung mit anorganischen Salzen und Methanol. Der Methanolniederschlag wurde abgefiltert, in Wasser gelöst und die Katalase durch Evaporation isoliert. Seine Studien über die Kinetik der H_2O_2 - Zersetzung durch Katalase brachten jedoch kein befriedigendes Ergebnis. Die richtige Analysierung gelang erst 10 Jahre später MAXIMOWITSCH und AWTONOMOWA.

JACOBYs Forschungsarbeit wurde von seinem Schüler HAGIHARA fortgeführt, der Katalase fällte, reinigte und den Nitrogengehalt bestimmte.

1919 berichten TAUSZ und PETER über die Wasserstoffsuperoxydzersetzung durch *Bact. aliphaticum liquefaciens* und *Bact. liquefaciens*. Sie bedienten sich der Titrimethode. D. RYWOSZ zeigte 1921 in einem Versuch mit *Escherichia coli*, dass die aeroben Stämme gegen H_2O_2 resistent sind, die anaeroben dagegen schnell davon zugrunde gehen.

MC LEOD und GOVENLOCK stellten 1921 fest, dass Pneumokokken eine Substanz bilden, die hemmend auf das eigene Wachstum und auf das anderer Mikroorganismen wirkt und erkannten diese bald als Wasserstoffsuperoxyd. MC LEOD und GORDON stellten dann eingehende Versuche an über die Fähigkeit mancher Bakterien, Wasserstoffsuperoxyd zu bilden. Versuche, Anaerobier auf mit Katalase beschickten Nährböden aerob zu züchten, schlugen fehl.

AVERY und MORGAN machten 1924 eine Reihe von Versuchen über den Einfluss bestimmter Faktoren (Luft) auf die Wasserstoffsuperoxydbildung der Pneumokokken.

AVERY und NEILL zeigten, dass in anaerob gezüchteten Pneumokokken kein H_2O_2 festzustellen war, dass aber nach schütteln mit Luft eine Farb-reaktion mit Benzidin stattfand.

VIRTANEN und seine Mitarbeiter stellten in den Jahren 1924 - 1931 eine Reihe von Katalasebestimmungen an und studierten den Einfluss verschiedener Faktoren. Im Gegensatz zu WIELANDs Feststellung, dass Anaerobier, wenn überhaupt, nur verschwindend geringe Katalasemengen besitzen, während Aerobier generell grosse Mengen des Enzyms bilden, zeigt VIRTANEN, dass die Verhältnisse komplizierterer Art sind. Die streng aeroben Bakterien der Essigsäuregruppe, der *Pseudomonas*gruppe und aerobe Zellulosebakterien enthalten wenig oder zumindest weniger Katalase als die aerophoben Propionsäurebakterien, die sich als die stärksten Katalasebildner unter allen von ihm untersuchten Bakterien erwiesen. Seine Versuche mit fakultativen Anaerobiern ergaben, dass diese unter anaeroben Bedingungen ebensoviel und teilweise sogar mehr Katalase bildeten als in aeroben Kulturen. VIRTANEN folgerte aus seinen Versuchsergebnissen, dass keine klare Beziehung zwischen Katalasegehalt und oxydativem Stoffwechsel der Mikroorganismen besteht.

1924 stellte KLUYVER wiederum die Behauptung auf, dass alle Mikroorganismen mit rein fermentativem Stoffwechsel ohne Katalase seien, die

Bakterien, die freien Sauerstoff für ihren Stoffwechsel benötigen, das Enzym dagegen immer enthielten. Die Ergebnisse von SCHLUNK über Katalasegehalt und Wasserstoffsuperoxyd-Empfindlichkeit einzelner Bakterien sind auf Grund mangelhafter Versuchstechnik zu ungenau und ergeben keine brauchbaren Resultate.

Ein wertvollere Beitrag zum Thema Katalase wurde im selben Jahr von STAPP geleistet, obwohl auch bei seinen Versuchen durch die unvollständige Versuchsanordnung mit unbekannter Bakterienzahl Fehlerquellen unvermeidlich waren. STAPP konnte selbst bei jahrelang in getrocknetem Zustand aufbewahrten Bakterien aktive Katalase nachweisen. Er fand auch, dass die Temperatur, die zur Inaktivierung der Katalase nötig war, bei verschiedenen Stämmen differierte. Eine Erhitzung auf 80°C für eine Zeitdauer von 15 Minuten jedoch erwies sich in allen Fällen als ausreichend, die Katalase vollständig zu zerstören. STAPP wies nach, dass auch Bakteriensporen Katalase enthielten, die selbst gegen Temperaturen über 100°C resistent war. Er behandelte weiter Bakteriensuspensionen mit verschiedenen toxischen Substanzen, deren Fähigkeit, die Katalaseaktivität zu verringern, ihm bekannt war. Die Resistenz der Bakterienkatalase gegenüber diesen Stoffen erwies sich dabei als unabhängig von deren Giftwirkung auf die Bakterien selbst. In manchen Fällen überlebten die Bakterien die Einwirkung von Konzentrationen, die die Katalase inaktivierten, in anderen Fällen wurden sie getötet, ehe die Katalaseaktivität zerstört war.

In den folgenden Jahren berichten VIRTANEN und KARSTRÖM erstmalig über Versuche mit bekannter Bakterienzahl. Die Katalase wurde mittels Titration bestimmt. Eingehende Versuche bewiesen, dass das Alter der Kultur nur einen unwesentlichen Einfluss auf den Katalasegehalt hat. Die beiden Autoren veröffentlichten die Ergebnisse über Untersuchungen an 23 verschiedenen Stämmen.

1927 studierte KIRCHNER den Katalasegehalt von *Staphylokokkus aureus*, *Ps aeruginosa* und *Escherichia coli* in verschiedenen Medien. Er schloss aus seinen Experimenten, dass der Katalasegehalt weitgehend von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig ist, wobei die Wasserstoffionenkonzentration der entscheidende Faktor ist. Der Katalasegehalt in sauren Medien war geringer als der in alkalischen Medien. Auch die Gegenwart von Sauerstoff spielte eine Rolle. Bei Anwesenheit von Dextrose beobachtete KIRCHNER verminderte Katalaseproduktion.

1928 stellten VIRTANEN und WINTER Versuche an über den Einfluss äußerer Bedingungen auf den Katalasegehalt von *Escherichia coli*. Sie fanden dabei keine wesentliche Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration oder dem pH - Wert.

1931 zeigten FUJITA und KODAMA, dass *Shigella dysenteriae* keine Katalase enthält.

HERBERT u. PINSENT kristallisierten im Jahre 1948 Katalase aus *Mikrokokkus lysodeicticus*, der die bisher grösste Katalaseaktivität aufwies (Katalase = 100, 000 im Vergleich zu 60, 000 bei *Erythrocyten*).

Im Jahre 1947 veröffentlichte J. MOLLAND eine ausführliche Arbeit über Bakterienkatalase. Im Gegensatz zu früheren quantitativen Versuchen wurden die Messungen bei 37° C vorgenommen und geben wohl ein naturgetreueres Bild der Katalaseaktivität unter biologischen Bedingungen. Die Kinetik der H_2O_2 - Zersetzung wurde genau studiert und die Formel einer monomolekularen Reaktion, von allen bisherigen Autoren anerkannt, wurde als irrig zurückgewiesen. MOLLAND ging von der von YAMASAKI, MAXIMOWITSCH und AWTONOMOWA aufgestellten Formel aus, die letztlich mit seinen Versuchsergebnissen eine gute Übereinstimmung aufwies. Die Formel geht von der Annahme aus, dass zwei Reaktionen gleichzeitig stattfinden. MOLLAND untersuchte weiter die Abhängigkeit der Katalaseaktivität von der H^+ - Ionen - Konzentration. Die Katalasebestimmungen wurden auf elektrochemischem Weg mit Hilfe des Polarographen und bei bekannter Bakterienzahl vorgenommen.

1955 veröffentlichten K. BINGOLD und W. LANG ihre Studien über Wesen und Bedeutung der Bakterienkatalase, unter besonderer Berücksichtigung des Katalasegehaltes bestimmter Mikroorganismen und der Thermolabilität des Enzyms. So wurden 84 Stämme von blutfarbstoffzerstörenden (peroxyd-bildenden) Bakterien mittels der Titrimethode mit Kaliumpermanganat auf ihre Katalaseaktivität hin untersucht, wobei sich nirgends eine messbare Aktivität fand. Weiter wurde die Resistenz katalasehaltiger und katalasefreier Bakterien gegenüber H_2O_2 vergleichend geprüft, wobei sich z.B. fand, dass der sehr katalasereiche *Staphylokokkus aureus* SG 511 erst bei der doppelten Konzentration Wasserstoffsuperoxyd gehemmt wird, die zur Hemmung der katalasefreien *Pneumokokken* notwendig ist. Ein einheitliches Verhalten war also nicht festzustellen. In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Thermolabilität der Katalase verschiedener Bakterien-

stämme untersucht und es zeigte sich, dass dabei bemerkenswerte Unterschiede bei den verschiedenen Arten und Stämmen bestehen. Die Schwankungen in der Thermoresistenz der betreffenden Bakterienkatalase betrugen bis zu 20 %. Die Arbeit weist auf die Bedeutung der Katalase für aerobes und anaerobes Bakterienwachstum hin und zieht Parallelen, die sich bei der Einwirkung von Antibiotika und Chemotherapeutika ergaben.

Durch eine differenzierte Methode konnte festgestellt werden, dass blutfarbstoffzerstörende H_2O_2 -bildende Bakterien keine eindeutig messbare Katalaseaktivität besitzen. Abschliessend sei noch auf eine von den Autoren geübte direkte mikroskopische Beobachtung der Katalasewirkung im Dunkelfeld oder besser im Phasenkontrast hingewiesen, wobei sich bei katalasehaltigen Keimen eine explosionsartige Reaktion unter dem Deckglas zeigte. Interessant ist dabei, dass (was gut zu beobachten war) sich die eigentliche Reaktion nicht an den Zellen selbst abspielte, sondern in vergleichsweise weiter Entfernung vom katalatisch wirksamen Objekt in Form von explosiver Blasenbildung, deren Entstehungszentrum oft kleine Fremdkörper waren. Es wurde von einer "Fernwirkung" gesprochen.

III. DIE CHEMISCHE NATUR DER KATALASE

Die chemische Natur der Katalase ist auch heute noch nicht völlig aufgeklärt.

Es handelt sich um ein Häminferment, dessen Wirkungsgruppe, wie ZEILE und HELLSTRÖM feststellten, das Protohämin ist. Das Molekulargewicht beträgt 240.000. Der Eisengehalt ist 0,09 % entsprechend 4 Eisenatomen. Daraus folgt, dass ein Fermentmolekül 4 Hämingruppen enthält. Wir unterscheiden bei der Katalase, ebenso wie bei jedem anderen Ferment 2 Bestandteile:

- a) die prosthetische oder aktive Gruppe, das sog. **C o f e r m e n t**.
Es ist thermostabil, dialysierbar, niedrig molekular und verantwortlich für den Reaktionsmechanismus.

- b) der kolloidale Träger, das sog. *A p o f e r m e n t*. Es ist thermolabil, hochmolekular und verantwortlich für die spezifische Wirkung des Fermentes.

Die chemische Struktur des Cofermentes wurde durch die Arbeiten von WARBURG, ZEILE, HELLSTRÖM, FISCHER, STERN, KEILIN u. a. aufgeklärt. Es handelt sich um einen eisenhaltigen Körper von der Struktur des Blutfarbstoffs. Die Katalase ist somit ein Chromoproteid. Sie gehört zu den eisenhaltigen Hilfsfermenten der Oxydation. Nachdem H. FISCHER und K. ZEILE die grundlegende Synthese des Hämins durchgeführt hatten, wurde es von STERN, SUMNER, DOUNCE, EULER durch Zuhilfenahme spektrographischer Untersuchungen weiter erforscht. Das Spektrum ist dem des Methämoglobins ähnlich. Das Eisen liegt in der 3 - wertigen Form vor.

Das Apoferment ist eine Eiweissverbindung, wie alle Eiweisskörper von komplizierter Struktur und so gut wie unbekannt. Vermutlich handelt es sich um eine dem Globin ähnliche Eiweissverbindung.

Neben Hämin wurden auch andere Derivate des roten Blutfarbstoffs als Spaltprodukte des Enzyms nachgewiesen. So wurde z. B. nach Eisenabspaltung mit Eisessighydrazin und Überführung in Äther das Spektrum des Protoporphyrins gemessen. Manche Katalasen enthalten in Ergänzung dazu eine blaue Komponente, welche durch Behandlung mit Aceton und Salzsäure abgespalten werden kann. Sie wurde von SUMNER und DOUNCE aus reiner, kristallisierter Ochsenleber gefunden, von LEMBERG, NORRIS, LEGGE kristallisiert und als Biliverdin erklärt. Nach neueren Untersuchungen handelt es sich um ein bei der Aufarbeitung entstandenes Kunstprodukt, dessen Bildung sich vermeiden lässt und das keinerlei Einfluss auf die Katalaseaktivität besitzt.

Die Katalase ist ein amphoterer Elektrolyt. Den isoelektrischen Punkt bestimmte STERN zu $\text{pH} = 5,58$, während das pH - Optimum der Wirksamkeit nach SÖRENSEN und NOSAKA bei $\text{pH} = 7$ berechnet wurde.

IV. DIE BILDUNG DER KATALASE

Über die Bildung der Katalase herrscht noch keine Klarheit. EULER vermutet, dass die Katalase, ebensowenig wie andere Enzyme, in der Zelle synthetisiert wird, sondern als Teil eines hochmolekularen Substrates, das höchstwahrscheinlich Eiweissnatur besitzt. Er glaubt, dass die Katalasebildung in der lebenden Zelle aus verschiedenen Grundmaterialien erfolgt und zwar einerseits in Zytoplasma, Plastiden und Kern und andererseits im Zellsaft. Die Synthese des aktiven Teils der Katalase lässt sich im Wesentlichen auf die Porphyrinsynthese zurückführen. Die Bildung der Katalase ist wie die anderer Enzyme als eine Kettenreaktion aufzufassen.

V. VORKOMMEN DER KATALASE

Die Katalase ist ein in der Organismenwelt weit verbreitetes Ferment, das generell überall dort vorkommt, wo das lebende Gewebe, bzw. die lebende Zelle ihre Energie aus der Sauerstoffatmung gewinnen.

Im tierischen Organismus weisen Leber und Blut wohl den höchsten Katalasegehalt auf. Auch die Nieren sind reich an Katalase im Gegensatz zum Muskelgewebe, das nur geringe Mengen aufweist.

Bei bestimmten Krankheiten kann die Katalaseaktivität stark erniedrigt sein. TAKAHARA berichtet über anscheinend familiär bedingtes Fehlen bzw. starke Reduzierung der Blutkatalase ("Akatalasämie"), wobei es aber möglich ist, dass hier, wie Befunde von LANG und PAPST vermuten lassen, nur eine extreme Empfindlichkeit der Katalase gegenüber thermischen, mechanischen oder Lichteinflüssen vorliegt.

Katalase ist in fast allen aeroben Mikroorganismen vorhanden, bei obliga-

ten Anaerobiern fehlt sie gewöhnlich, bei fakultativen Anaerobiern variieren die Bedingungen je nach Art des Stammes. THEORELL beschreibt zwei Ausnahmen: den Aerobier *Acetobacter. peroxydans*, der keine Katalase aufwies, und den Anaerobier *Actinomyces necrophorus*, der welche zu besitzen schien. Eine Reihe wichtiger menschenpathogener Keime, die aerob wachsen, scheinen ebenfalls keine Katalase zu besitzen, wie vor allem Pneumokokken, gewisse Arten von Streptokokken mit α - Hämolyse, wie die Gruppe der vergrünenden Streptokokken (z. B. *Streptokokkus viridans*). Wie die Arbeiten von BINGOLD und LANG zeigen, handelt es sich dabei um die Gruppe der sog. "blutfarbstoffzerstörenden" (H_2O_2 -bildenden) Bakterien. Im Verlauf der in dieser Arbeit noch zu beschreibenden Versuche zeigte sich auch das Typhusbakterium (*Eberthella typhosa*) ohne messbare Katalaseaktivität.

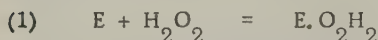
VI. BEDEUTUNG IM ZELLSTOFFWECHSEL UND WIRKUNGSMECHANISMUS

Die enge Beziehung des Fermentes zu den Atmungsvorgängen zeigt die Tatsache, dass Katalase in fast allen aerob lebenden Zellen vorhanden ist, während sie für anaerob lebende Zellen (z. B. anaerob keimende Reiskörner) entbehrlich zu sein scheint.

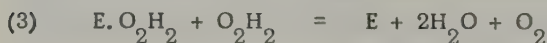
Nach der Dehydrierungstheorie muss bei jeder Dehydrierung durch molekularen Sauerstoff als obligates Zwischenprodukt Hydroperoxyd entstehen. Die Eigenschaft des Hydroperoxyds als starkes Zellgift, lässt sich durch zahlreiche Versuche erweisen (Entfärbung des roten Blutfarbstoffs). Eine Erklärung dafür, dass H_2O_2 bei der Atmung lebender Zellen sich dem Nachweis entzieht, liegt in der Funktion der Katalase. Damit ist ihre Bedeutung in der Zellatmung festgelegt. Sie dient als Regulator dazu, überschüssiges H_2O_2 sofort zu zerstören und erfüllt diese Aufgabe so gründlich, dass man an atmenden Zellen das Auftreten von Wasserstoffsuperoxyd niemals nachweisen kann. Durch die Zerlegung stellt sie den Zellen wiederum molekularen Sauerstoff zur Verfügung und hat wie dies THUNBERG

und STAFFE vermuten, möglicherweise eine Sparfunktion. Es ist auch im Bereich der Möglichkeit, dass die Zerlegung von H_2O_2 Energie liefert, die dann bei gekoppelten Reaktionen irgendwie benützt werden könnte.

Der genaue Wirkungsmechanismus der Katalase ist auch heute noch nicht vollständig aufgeklärt. Neuere Untersuchungen, hpts. von THEORELL und CHANCE haben gezeigt, dass der Katalase - bzw. Oxydasewirkung der gleiche Mechanismus zugrundeliegt, wobei aber, im Gegensatz zu den Cytochromen das Eisen immer 3 - wertig bleibt. Das Enzym bildet zunächst mit einem Molekül H_2O_2 eine Additionsverbindung, wobei sich das H_2O_2 an das Ferrieisen anlagert. Dieser Komplex reagiert nun unter Zerfall mit einem oxydierbaren Molekül (= Akzeptor). Wenn wir das Enzym mit E, den Akzeptor mit AH_2 und sein Oxydationsprodukt (das aus ihm durch Dehydrierung entsteht) mit A bezeichnen, so kann man diese Reaktion folgendermassen formulieren:



Die Katalasereaktion unterscheidet sich nur dadurch, dass ein zweites Molekül Peroxyd als Akzeptor mit dem primärem Enzym - Peroxyd - Komplex reagiert.



(2) und (3) sind analoge Vorgänge.

Wie schon erwähnt, beruht die physiologische Funktion der Hydroperoxydase darin, das im Zellstoffwechsel entstehende Wasserstoffsuperoxyd zu zerstören. Ob die Katalase in der Zelle aus dem H_2O_2 den Sauerstoff abspaltet oder ihn als Peroxydase auf andere Verbindungen überträgt, hängt, wie auf Grund der obigen Reaktionsgleichungen verständlich wird, von der H_2O_2 Konzentration im Verhältnis zur Konzentration der vorhandenen oxydierbaren Verbindungen ab. Da die letzteren unter physiologischen Bedingungen wohl stets in grossem Überschuss vorhanden sind, dürfte im Zellmilieu auch die Katalase immer als Peroxydase wirksam sein

(THEORELL). Es liegt die merkwürdige Tatsache vor, dass bei einem Enzym die am leichtesten zu beobachtende Wirkung unter physiologischen Bedingungen wahrscheinlich gar keine Rolle spielt.

VII. CHEMISCHE UND MECHANISCHE EINFLÜSSE AUF DIE KATALASEAKTIVITÄT

Grundsätzlich ist zu bemerken, dass alle Agenzien, die den Kolloidzustand des Enzyms beeinflussen (z.B. Salze oder organische Fällungsmittel) dementsprechend auch auf die Aktivität wirken können. Dies trifft auch für rein mechanische Einflüsse zu, wie Schütteln oder Filtrieren. WIELAND beobachtete Inaktivierung von Ochsenleberkatalase durch Schütteln, Durchleiten von indifferenten Gasen, Evakuieren und Druckerhöhen, während Pferdeleberkatalase gegen Schütteln und Evakuieren völlig unempfindlich war. Die Schädigung ist in diesem Falle reversibel.

Schwermetallsalze, besonders Hg-, Pb-, Bi-Salze können eine stark reduzierende Wirkung ausüben. Auf die hemmende Wirkung der Hg-Salze wies schon SENTER hin. Auch Chlorate und Nitrate, sowie Chloride der Alkalien und Erdalkalien sind von schädigendem Einfluss. Eine grosse Empfindlichkeit des Enzyms gegenüber der H⁺-Ionenkonzentration hat MORGULIS, nach ihm SÖRENSEN und NOSAKA festgestellt, die das pH-Optimum bei ungefähr pH = 7 fanden. Von STERN wurde die Hemmung der Katalaseaktivität durch organische Substanzen untersucht. Es interessiert hier besonders der Alkohol, der bei der Enzymgewinnung häufig verwendet wird. Solange er keine Ausfällung des Enzyms verursachte, war keine hemmende Wirkung zu beobachten, bei Leber- und Blutkatalase sogar eine Aktivierung und Reaktivierung. Alkoholfällung dagegen erwies sich, wie dies HENNICHs und EULER beobachteten als schädigend. Bei Narkotika, Aldehyden, Harnstoff und Aceton wurde ebenfalls eine Einwirkung auf die Aktivität nachgewiesen.

Eine Sonderstellung nehmen die Stoffe ein, die spezifisch an der aktiven

Gruppe des Enzyms, der Häminkomponenten, hemmend angreifen. Sie bewirken eine Änderung des Absorptionsspektrums. Ein reversibel wirkendes Katalasegift, das zugleich eines der stärksten ist, wurde von WIELAND in der Blausäure erkannt. Die Hemmung deutete er als einen Absorptionsvorgang, der Hemmung durch indifferente Gase vergleichbar.

Sulphydrulverbindungen rufen ebenfalls eine reversible Schädigung der Katalase hervor. Eine spezifische Hemmung der Katalase wird durch CO verursacht. Auch Oxime beeinflussen das Enzym nachteilig in seiner Aktivität.

Der schädliche Einfluss von UV-Strahlen wirkt sich nur auf Katalaselösungen aus und zwar umso intensiver, je verdünnter die Lösung ist. Röntgenstrahlen sind relativ unwirksam. Radium in Dosen von 1 - 10 Mikrogramm pro 200 ccm Katalaselösung vermag nach MAUBERT zu aktivieren, grössere Mengen hemmen. Auch β und γ Strahlen wirken sich schädigend auf das Enzym aus. Bei Emanation wurde eine aktivierende Wirkung beobachtet, ebenso berichten HENNICHES und EULER über gelegentliche Aktivitätssteigerungen beim Stehen in alkoholhaltiger Lösung.

Eine Schutzwirkung gegen schädigende Einflüsse sollen, nach Angabe verschiedener Autoren gewisse Substanzen ausüben. So beobachtete HENNICHES die Schutzwirkung von inaktivierter Katalaselösung auf intaktes Enzym gegen Thermoinaktivierung. Blutseren und Hühnereiweiss sollen die Wirkung der Nitrate und Chloride weitgehend aufheben. TAKAYAMA fand als schützende Substanzen: Schwermetalle, Alkohol, Äther, Formaldehyd, Aceton, Bolus alba und Gelatine.

Einen spezifischen Hemmkörper erblicken BATELLI und STERN in der sog. Antikatalase, die die Zerstörung der Katalase auf oxydativem Wege herbeiführt. Als Schutzkörper gegen diese spezifische Hemmwirkung betrachten dieselben Autoren die im Muskelgewebe auftretende Philokatalase, die, an sich auf die Katalase unwirksam, nur die durch die Antikatalase hervorgerufenen Schädigungen aufzuheben vermag.

Die Temperatur ist von allgemeiner Bedeutung für die Enzyme und kann sich in verschiedener Richtung hin auf das betreffende Ferment auswirken. Im allgemeinen schädigen Temperaturen über 60°C Enzyme irreversibel. Es treten hierbei in wässrigen Lösungen durch Denaturierung und Koagulation des Eiweisses Ausflockungen auf, die die wirksame Oberfläche ver-

kleinern. Trotz der allgemeinen Temperaturempfindlichkeit der Fermente sind Fälle bekannt, in denen selbst Aufkochen das Enzym nicht restlos schädigte. Es sei hier auf die Versuche von AMMON und TABOR mit Pankreastrocknenpulver und Erhitzung auf 120°C und die Versuche von STAPP mit Bakteriensporen hingewiesen.

1928 befassten sich S. MORGULIS und M. BEBER mit der Hitzeinaktivierung der Katalase. Die Versuche wurden erweitert auf Hitzeinaktivierung bei verschiedenen H⁺-Ionen - Konzentrationen (Ochsennierenkatalase). Bei 65°C zeigte sich vollständige Zerstörung der Katalase bei allen H⁺-Ionenkonzentrationen, weshalb dies als kritische Temperatur für Katalaseaktivität angegeben wurde. Die Versuche ergaben eine starke Abhängigkeit der Inaktivierungstemperatur von der H⁺-Ionen - Konzentration.

Von EULER stammt der Begriff der "Tötungstemperatur" (Destruktionstemperatur) eines Enzyms, die definiert wird als diejenige Temperatur, bei der ein Enzym in wässriger Lösung ohne sein Substrat bei optimalem pH nach einer 30 Min. langen Einwirkung in seiner Aktivität zur Hälfte vermindert wird. Die Optimaltemperatur für die meisten Fermente wird zwischen 37°C - 53°C angegeben.

Die Feststellung, dass ein Enzympräparat, nachdem es ohne sein Substrat erhitzt wurde, nach Abkühlung eine höhere Wirksamkeit zeigte als vorher, liess den Gedanken einer Aktivitätssteigerung durch Temperaturerhöhung nahekomen. Am eindrucksvollsten ist dieser Effekt bei Katalasen. An Blutkörperchen wurde von EULER und BORGSTAM eine Wärmeaktivierung beobachtet. Beim Erhitzen einer Suspension von Pferdeblutkörperchen auf 57°C für 30 Min. wurde eine Steigerung der Katalaseaktivität auf 170 % erzielt.

Weitere Versuche wurden von EULER und BLIX mit Hefekatalase und von BODNAR und BÄRTFAI mit Fettkatalase unternommen. EULER nimmt zur Erklärung dieses Effektes an, dass innerhalb der Temperaturgrenzen der Aktivierung ein Hemmkörper zerstört wird, NOSAKA führt die Aktivierung auf Hämolyse zurück.

Auch Kälte hat u. U. einen Einfluss in irgendeiner Richtung auf die Wirksamkeit des Enzyms. Mit Absinken der Temperatur werden im allgemeinen alle chemischen Reaktionen verlangsamt, sodass eine Abkühlung von Gewebeflüssigkeit auf Eistemperatur auch weitgehend jeden fermentativen Vor-

gang unterdrückt. Aber ebenso wie höhere Temperatur kann auch grössere Kälte desaggressierend auf Eiweisskörper wirken, es kann aber auch eine Aggregation eintreten.

Dass Katalase durch Hitze inaktiviert wird, war also bereits seit langem bekannt. Neue Gesichtspunkte jedoch ergaben sich auf Grund der Studien von BINGOLD über den Blutfarbstoffwechsel, wobei es zur Entdeckung bisher nicht bekannter Eigenschaften des Apofermentes kam. Es zeigte sich, dass die zur Inaktivierung des Blutes notwendige Temperatur je nach Art des vorliegenden Blutes (Menschen- oder Tierblut) in hohem Masse spezifisch ist. EULER hatte schon früher den Begriff der Tötungs- bzw. Destruktionstemperatur für die Fermente im allgemeinen geprägt, auf Grund der obigen Erkenntnisse konnte man jetzt von einer spezifischen Zerstörungstemperatur der Katalase sprechen. Sie ergab sich bei Menschenblut zwischen 72° und 73° C, für Hundeblood bei 50° C. Bei bestimmten Vögeln (Gans) zeigte sich schon bei Zimmertemperatur keine Katalase mehr, was aber von LANG und PAPST als extrem hohe Labilität der Katalase gegenüber mechanischen Einflüssen erkannt wurde. Ausführliche Untersuchungen der beiden Autoren erhärteten die Annahme, dass das unterschiedliche Verhalten der Blutarten gegenüber Thermoinaktivierung in der Spezifität des Katalasemoleküls, speziell des Eiweissträgers begründet liegt. Die Quantität des Fermentes in der Zelle spielt also scheinbar keine Rolle. Auch der Gehalt des Blutes an Schutz- oder Hemmstoffen scheint keine ausschlaggebende Rolle zu spielen. Entscheidend sind die qualitativen Verschiedenheiten der betreffenden Katalase selbst.

Es lag nun der Gedanke nahe, dass, ebenso wie die Katalase der verschiedenen Tierblutarten, auch die Bakterienkatalase je nach Art des Stammes Unterschiede aufweisen würde. Genauere, systemat. Untersuchungen dieser Art wurden 1955 von BINGOLD und LANG aufgestellt. Unter Anwendung von bereits bei den Untersuchungen der Blutkatalase bewährten Methoden, wurde die Thermolabilität der Bakterienkatalase 4 verschiedener Stämme (Staph. aureus, Staph. albus, Strept. muc. und E. coli) geprüft und kurvenmässig gegenübergestellt. Bei den Untersuchungen zeigte sich, dass nicht immer von einer gewissen Zerstörungstemperatur, sondern in den meisten Fällen von einem mehr oder minder grossen Zerstörungsbereich gesprochen werden musste.

VIII. BESCHREIBUNG DER EIGENEN VERSUCHE UND ERKLÄRUNG AN HAND DER AUFGEFÜHR- TEN ÜBERSICHTSKURVEN

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die durch diese Ergebnisse deutlich bewiesene Verschiedenheit der Temperaturlabilität einzelner Keimarten näher zu beleuchten, die Versuche auf eine grössere Anzahl versch. Bakterienstämme auszuweiten und eventuelle Zusammenhänge zu finden.

Es wurde dabei folgende, von BINGOLD und LANG, gemeinsam mit RIEDERER v. PAAR entwickelte Methode angewandt, die sich bei zahlreichen vorausgegangenen Versuchen als geeignet erwiesen hatte:

Von einer möglichst gleichmässigen Bakterienaufschwemmung wird je 1 ccm in sterile Reagensgläser pipettiert. Diese werden im Wasserbad den zu prüfenden Temperaturen ausgesetzt. 2 Kontrollgläser mit derselben Aufschwemmung dienen zur Bestimmung der Grenzwerte, und zwar bleibt ein Glas bei Zimmertemperatur stehen, das andere wird 10 Min. im Wasserbad gekocht. Es kann dann angenommen werden, dass im ersten Glas 100 % der zu untersuchenden Katalase vorhanden sind, im 2. Glas 0 %. Die übrigen Gläser werden für eine Zeitdauer von 5 Min. den betreffenden Temperaturen ausgesetzt, herausgenommen, und auf Zimmertemperatur abgekühlt, um eine weitere Temperatureinwirkung zu stoppen. Nun werden in sämtliche Gläser mit steriler Pipette jeweils 1/2 ccm einer 1 %igen H_2O_2 - Lösung gegeben, und die Gläser einmal kurz geschüttelt, um das Wasserstoffsuperoxyd gleichmässig in der Aufschwemmung zu verteilen. Nach einer Reaktionszeit dieses Spaltansatzes von 20 Min. wird die katalatische Reaktion durch Aufpipettieren einer 20 %igen Schwefelsäure unterbrochen und in jedem Glas das verbliebene H_2O_2 durch Titration ermittelt. Die Titration erfolgt mit einer n/10 Kaliumpermanganatlösung aus einer auf Kubikmillimeter geeichten Bürette bis zum Farbumschlag. Aus dem Ergebnis der Titration wird der Prozentgehalt an Katalase für jedes Glas nach der Formel

$$\frac{(b - c) \cdot 100}{b - a} \quad \text{errechnet, wobei}$$

a = dem Titrationsergebnis bei Zimmertemperatur

b = dem Titrationsergebnis nach Kochen

c = dem Titrationsergebnis bei der zu untersuchenden Temperatur entspricht.

Um eventuelle, sich aus Ungenauigkeiten in der Versuchsanordnung ergebende Fehlerquellen auszuschalten, wurde der katalasereiche und relativ anspruchslose *Staphylokokkus aureus* Sg 511 abwechselnd auf Frischblut-, Kochblut-Standard-Agar I gezüchtet, nach 24 Std. mit steriler Platinöse von der Platte abgenommen und in Traubenzuckerbouillon aufgeschwemmt. Beim Vergleich der gefundenen Katalasewerte war keine Beeinflussung der Aktivität durch die unterschiedlichen Nährböden festzustellen.

Da der Farbumschlag beim Titrieren infolge einer, wenn auch nicht erheblichen Oxydationskraft der Bouillon oft nicht ganz eindeutig erfolgte, was die Ablesung erschwerte, wurde für weitere Versuche einer Aufschwemmung der Keime in physiologischer Kochsalzlösung der Vorzug gegeben.

Bei den Versuchen von BINGOLD und LANG wurde wie folgt verfahren: 15 ccm einer sterilen Traubenzuckerbouillon wurden mit dem zu untersuchenden Keim beimpft und 24 Std. lang bei 37° C bebrütet. Die auf diese Weise direkt gewonnene Aufschwemmung wurde dann wie beschrieben weiter untersucht.

Beim Vergleich dieser eben beschriebenen Bouillonkultur mit einer entsprechenden Aufschwemmung einer Plattenkultur desselben Stammes in Bouillon bzw. Kochsalz, zeigte sich der interessante Befund, dass die Katalase der Plattenkultur entschieden resistenter als die der Originalbouillon war. Bei der Plattenkultur trat die Zerstörung der Katalase in allen Fällen übereinstimmend zwischen 75° - 78° C ein, während dies bei der Originalbouillon schon zwischen 63° - 66° C zu beobachten war. Die Vermutung, dass dies vielleicht auf die Unterschiede in der Sauerstoffzufuhr zurückzuführen sei, lag nahe, wurde jedoch durch die folgende Versuchsreihe nicht bestätigt. Es zeigte sich kein wesentlicher Unterschied in der Katalaseaktivität von aerob bzw. anaerob gezüchteten Kul-

turen von *Staphylokokkus aureus* SG 511. Eine Reihe von Änderungen in den Versuchsbedingungen, wie Verwendung verschieden alter Kulturen, Stehenlassen von Bakterienaufschwemmungen, Beimpfung einer in Petrischalen gegossenen Traubenzuckerbouillon (um eventuell die Luftzufuhr zu begünstigen) u. a. gaben keinerlei Anhaltspunkte zur Klärung der Frage.

Erst die Überlegung von der eventuellen Abhängigkeit der Katalaseaktivität von der Konzentration der Suspension, d. h. der Menge der aufgeschwemmten Keime führte weiter. Vergleichende Versuche mit Aufschwemmungen verschiedener Dichte zeigten erhebliche Unterschiede der Katalaseaktivität. Es war sogar eine gewisse Regelmässigkeit in der Resistenzsteigerung bei zunehmender Konzentration zu erkennen. Die Versuchsanordnung sei hier kurz erklärt und die Ergebnisse angegeben:

4 Röhrchen mit je 10 ccm physiolog. Kochsalzlösung werden mit 1, 2, 4 und 6 Ösen des zu untersuchenden Keimes beimpft und durch Schütteln eine gleichmässige Aufschwemmung gewonnen. Im Gegensatz zu den früheren Versuchen, bei denen die Röhrchen den betreffenden Temperaturgraden nur für 5 oder 10 Minuten ausgesetzt wurden, legte ich die Zeit, um Fehlerquellen durch ungleichmässige Erhitzung des Substrates zu vermeiden, auf 30 Minuten fest, was der allgemein üblichen Inaktivierungszeit für Fermente entspricht. Eine Angabe der Versuchsergebnisse sei des besseren Überblicks halber beigelegt:

	R ₁ 1 Öse in 10 ccm	R ₂ 2 Ösen in 10 ccm	R ₃ 4 Ösen in 10 ccm	R ₄ 6 Ösen in 10 ccm
Z	100 %	100 %	100 %	100 %
K	0 %	0 %	0 %	0 %
68° C	93 %	100 %	100 %	100 %
69° C	55 %	100 %	100 %	100 %
70° C	3 %	62 %	100 %	100 %
71° C	3 %	4 %	62 %	100 %
72° C	3 %	0 %	16 %	40 %
73° C	2 %	0 %	4 %	1 %
74° C	1 %	0 %	0 %	0 %
75° C	1 %	0 %	0 %	0 %

Eine genaue Erklärung dieses seltsamen Befundes zu geben, ist nicht möglich gewesen. Andere auf diese Weise untersuchte Bakterien zeigen keinerlei Abhängigkeit ihrer Katalaseaktivität von der Konzentration der Aufschwemmung, was darauf schliessen lässt, dass die Ursache vielleicht in einer uns unbekannten Eigenart der chemischen Struktur von SG 511 zu suchen ist. Eine Erklärung dazu mögen die Befunde von HACKENTHAL und BIERKOWSKI bieten, die festgestellt haben, dass der Stamm SG 511 nicht einheitlich ist, sondern sich in 6 Komponenten mit differierenden Eigenschaften zerlegen lässt.

Die an Hand der Vorversuche ausgearbeitete, endgültige Untersuchungsmethode sei noch einmal kurz angegeben:

Eine Normalagarplatte wird mit dem zu untersuchenden Keim beimpft und für eine Zeitdauer von 24 Std. bei 37°C bebrütet. Von dem so gewonnenen Bakterienrasen wird eine Öse (bei den untersuchten Coli-Stämmen wegen der geringen Katalaseaktivität 4 Ösen) mit steriler Platinöse abgenommen, in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit steriler Pipette je 1 ccm in sterile Röhrchen verteilt, die bei 37°C im Wasserbad aufbewahrt werden. Die Röhrchen werden dann einzeln den betreffenden Temperaturgraden für eine Dauer von 30 Min. ausgesetzt, abgekühlt und das restliche H_2O_2 durch Titration ermittelt, woraus sich dann an Hand der Kontrollröhrchen und mit Hilfe der bereits angegebenen Formel die Katalaseaktivität prozentual errechnen lässt.

Auf diese Weise wurden nun 36 verschiedene Bakterienstämme untersucht, die einzelnen Zerstörungsbereiche ermittelt und graphisch in Form von Kurven dargestellt.

Die folgende Tabelle führt die untersuchten Bakterienstämme an und zeigt ihre nach der Definition von EULER errechnete Destruktionstemperatur (= diejenige Temperatur, bei der ein Enzym nach einer 30 Min. langen Einwirkung in seiner Aktivität zur Hälfte vermindert wird).

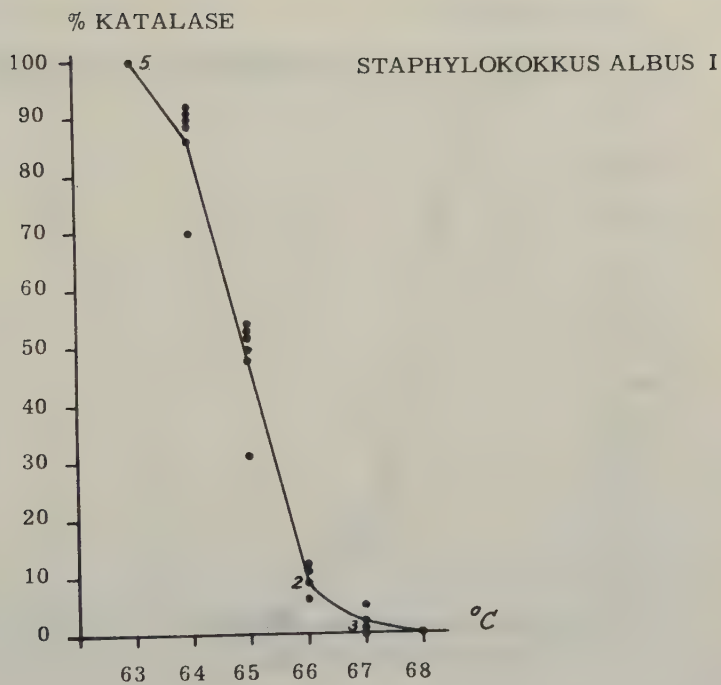
Es zeigt sich, dass die Bakterienstämme innerhalb einer Spezies mit Ausnahme einiger Coli-Stämme durchweg übereinstimmen, während die einzelnen Gruppen in ihrer Katalaseaktivität erhebliche Unterschiede aufweisen.

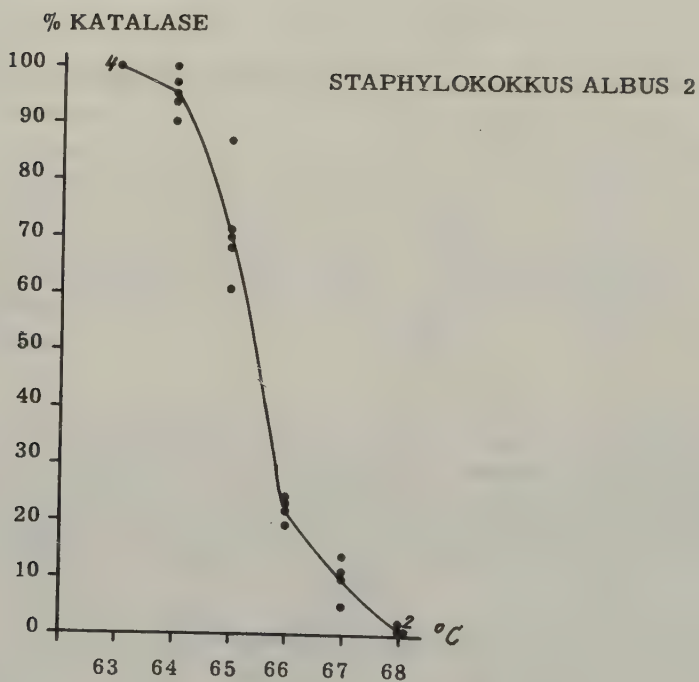
1. Staphylokokkus albus 1	64,9° C
2. Staphylokokkus albus 2	65,4° C
3. Staphylokokkus albus 3	67,2° C
4. Staphylokokkus albus 4	65,2° C
5. Staphylokokkus aureus SG 511	70,7° C
6. Staphylokokkus aureus hämolyticus	71,6° C
7. Staphylokokkus aureus Mastitis W	72,4° C
8. Staphylokokkus aureus Mastitis N	71,7° C
9. Staphylokokkus aureus 381 (gelbe Variante)	71,4° C
10. Staphylokokkus aureus 381 (weisse Variante)	71,6° C
11. Staphylokokkus aureus 330 (gelbe Variante)	70,2° C
12. Staphylokokkus aureus 330 (weisse Variante)	70,7° C
13. Diplokokkus mucosus 2 dN	78,1° C
14. Prodigiosus Köln	71,5° C
15. Pyocyaneus 1	72 ° C
16. Pyocyaneus 2	72 ° C
17. Pyocyaneus 3	72,6° C
18. Proteus 1	72 ° C
19. Proteus 2	73,5° C
20. Proteus 3	72,7° C
21. Proteus mirabilis	73,2° C
22. Enteritis Breslau 1	87 ° C
23. Enteritis Breslau 2	87,2° C
24. Enteritis Gärtner	86,5° C
25. Paratyphus Schottmüller 1	86,8° C
26. Paratyphus Schottmüller 2	83,7° C
27. Salmonella München	87,5° C
28. E - Ruhr	51,3° C
29. Flexner - Ruhr	77,5° C
30. Escherichia coli 0 1 K 1 L H - (7)	51,7° C
31. Escherichia coli lact.	54 ° C
32. Escherichia coli L	54 ° C
33. Escherichia coli 0 ⁴ 55	77 ° C
34. Escherichia coli 1	75,5° C
35. Escherichia coli 2	82,5° C
36. Escherichia coli 3	81,5° C

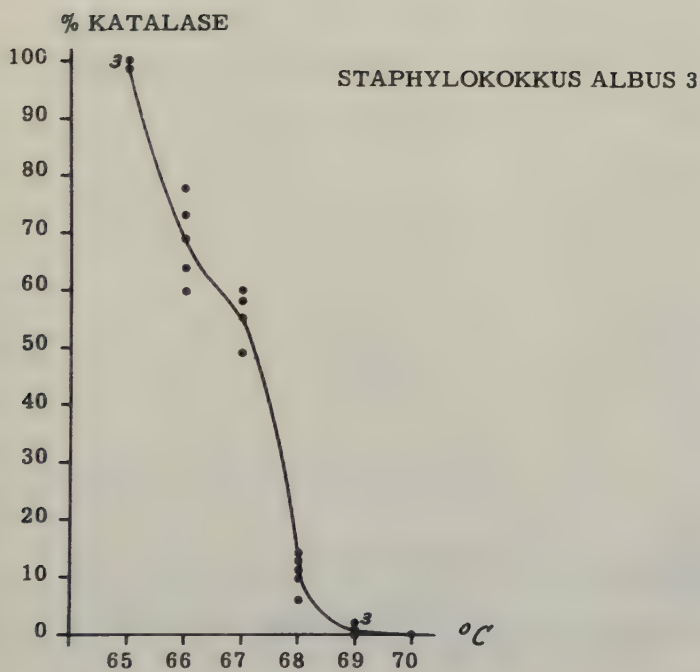
Es wurden zunächst 4 verschiedene Stämme von *Staphylokokkus albus* untersucht. Es zeigte sich für alle Stämme gemeinsam eine hohe Katalaseaktivität und ein rapider Katalaseabfall in einem relativ engen Bereich.

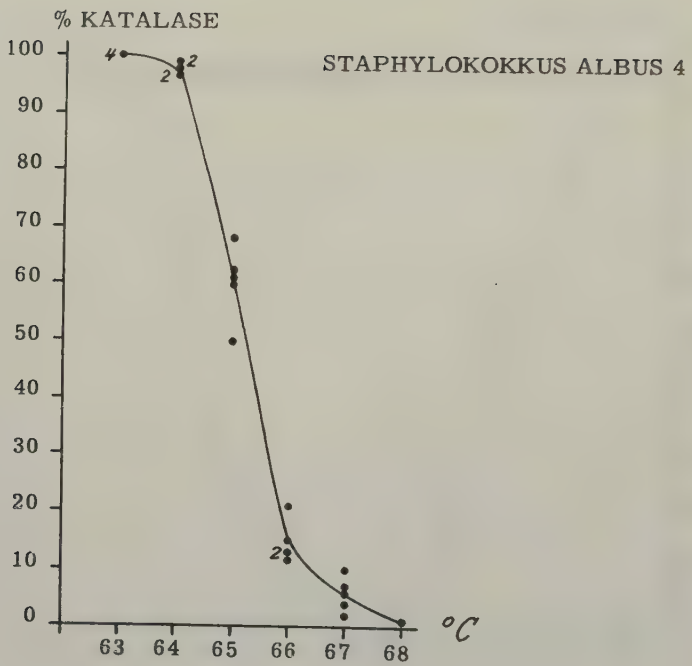
Bei *Staphylokokkus albus* 1, 2 und 4 liegt der Zerstörungsbereich zwischen 63° und 68° C. Die einzelnen Kurven zeigen von 63° bis 64° nur einen geringen, von 64° bis 66° einen rapiden Abfall bis auf wenige % Katalase. Die kritische Temperatur liegt demnach bei 64° C. Die Kurven der 3 Stämme überlagern sich fast vollständig, während *Staphylokokkus albus* 3 eine geringe Abweichung aufweist. Der Zerstörungsbereich liegt zwischen 65° und 70° , der rapide Abfall beginnt schon bei 65° , pausiert etwas zwischen 66° und 67° und beginnt von Neuem bis 68° . Man kann also fast von einem Abfall in 2 Fraktionen sprechen. Da diese Abweichung jedoch relativ gering ist, kann man wohl die Behauptung aufstellen, dass die untersuchten Stämme des *Staphylokokkus albus* in ihrem Katalaseverhalten ein einheitliches Bild aufweisen.

Um ein klares Bild der Verhältnisse zu geben, wurde die Katalaseaktivität in Abhängigkeit von der Temperatur für die aufgeführten Befunde einzeln graphisch dargestellt unter Berücksichtigung der errechneten Mittelwerte. Die bei den einzelnen Versuchen ermittelten Werte sind in Ergänzung zu den Mittelwertskurven punktförmig angegeben.









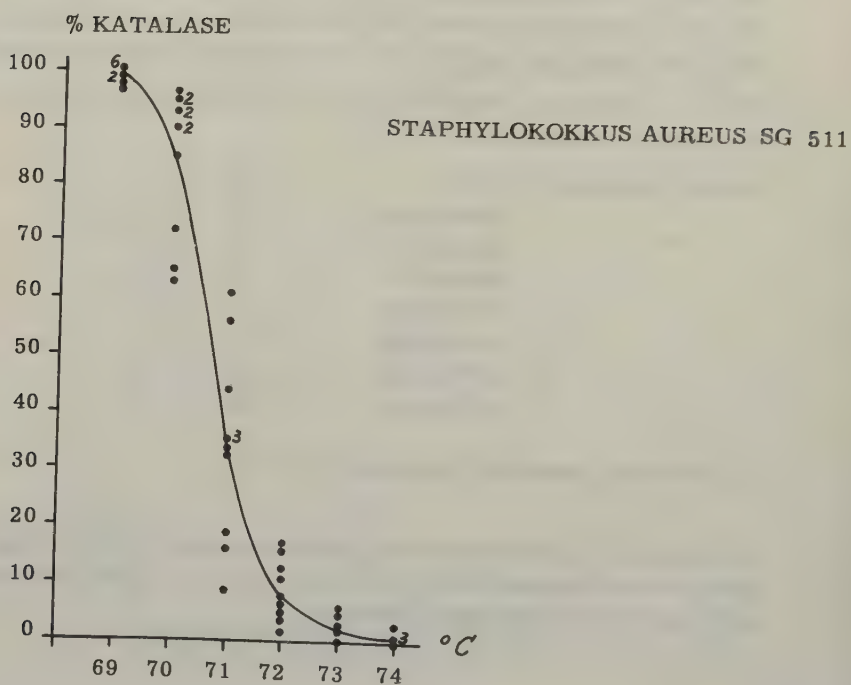
Als nächstes wurden 8 verschiedene Stämme von *Staphylokokkus aureus* bezüglich ihrer Katalase untersucht. Sie unterscheiden sich gegenüber *Staphylokokkus albus* nur durch eine grössere Resistenz des Enzyms. Der Zerstörungsbereich liegt bei allen 8 Stämmen einheitlich zwischen 68° und 74° C. Die einzelnen Kurven weisen ein übereinstimmendes Bild auf; langsamer Beginn der Katalasezerstörung, rapider Abfall und wiederum langsames Ausklingen der Katalaseaktivität bis zum 0-Punkt.

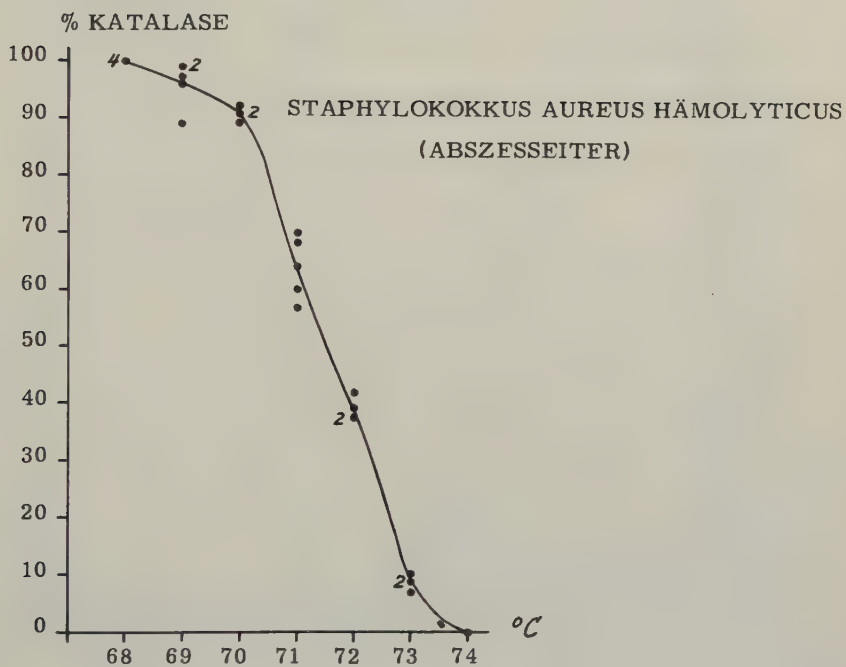
Kritische Temperatur, bzw. Beginn des rapiden Abfalls der Aktivität der einzelnen untersuchten Stämme:

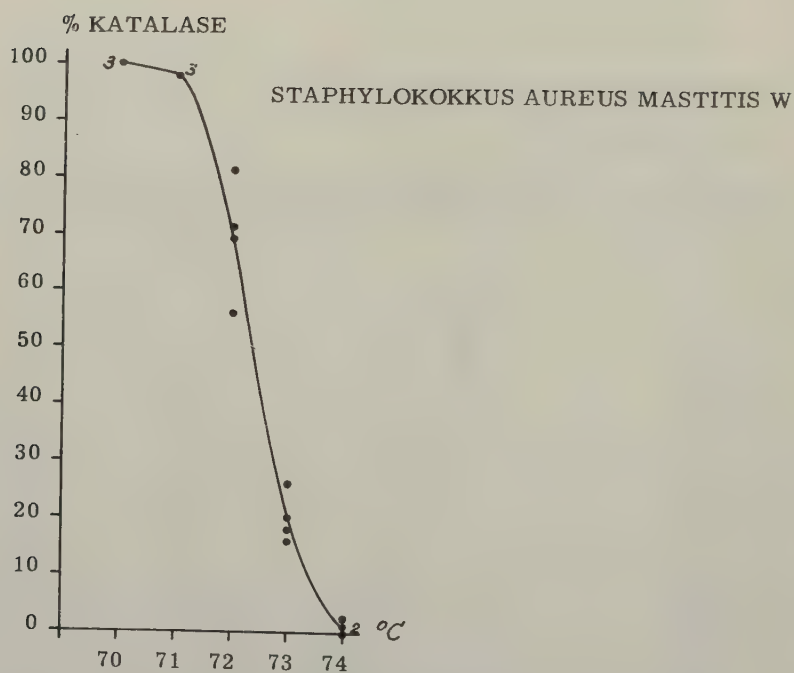
Staphylokokkus aureus	SG 511	$70^{\circ} - 72^{\circ}$ C
"	" hämolyticus	$70^{\circ} - 73^{\circ}$ C
"	" Mastitis W	$71^{\circ} - 73^{\circ}$ C
"	" Mastitis N	$71^{\circ} - 73^{\circ}$ C
"	" 381 (gelb)	$70^{\circ} - 72^{\circ}$ C
"	" 381 (weiss)	$70^{\circ} - 72^{\circ}$ C
"	" 330 (gelb)	$69^{\circ} - 71^{\circ}$ C
"	" 330 (weiss)	$69^{\circ} - 72^{\circ}$ C

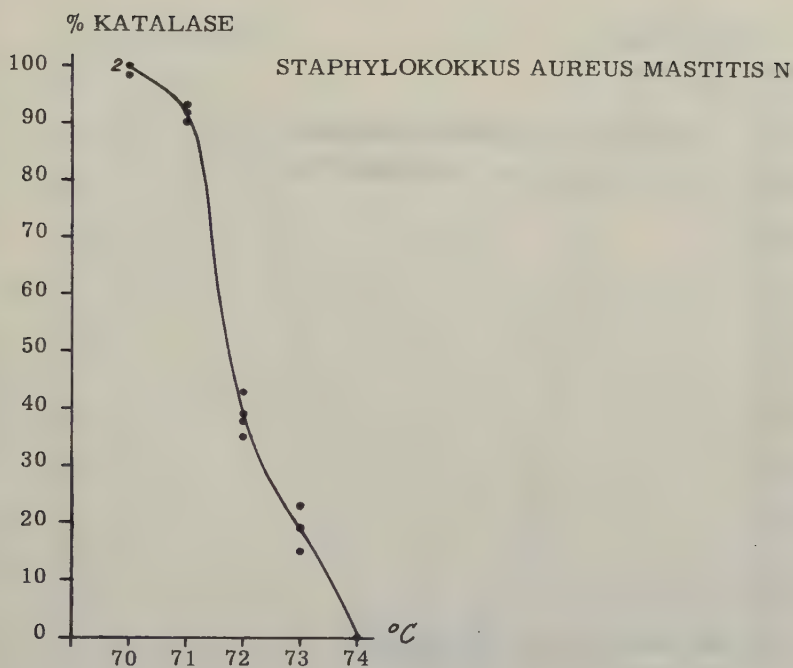
Auch hier liegt eine hohe Katalaseaktivität vor.

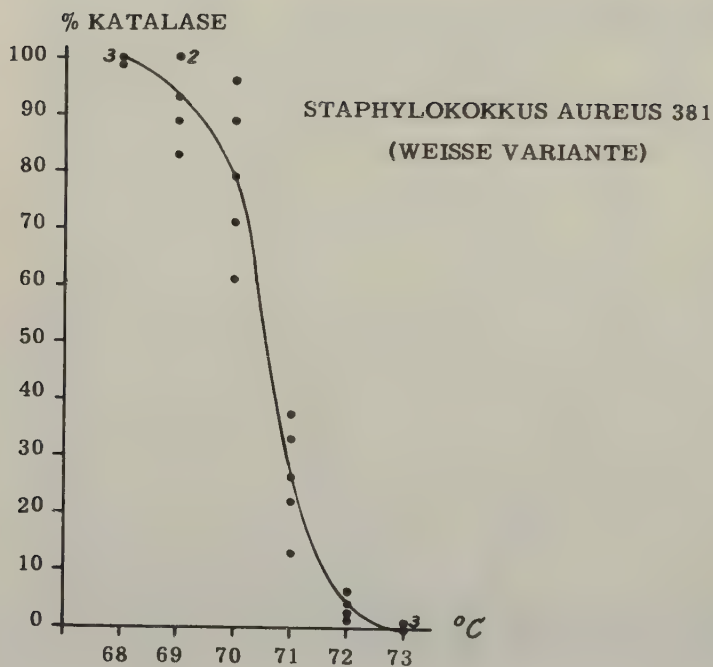
Auf Grund der Versuchsergebnisse scheint die Annahme gerechtfertigt, dass sich auch weitere Stämme dieser Art durch ein einheitliches, spezifisches Katalaseverhalten auszeichnen.

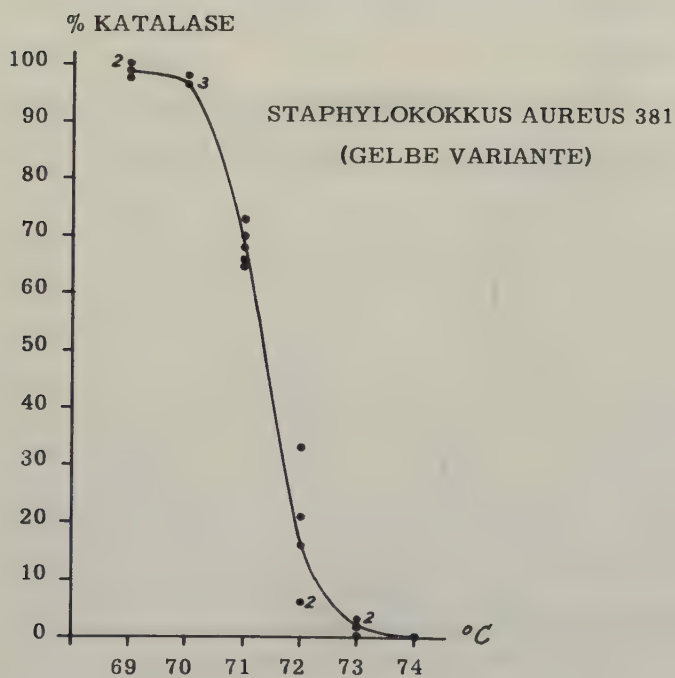


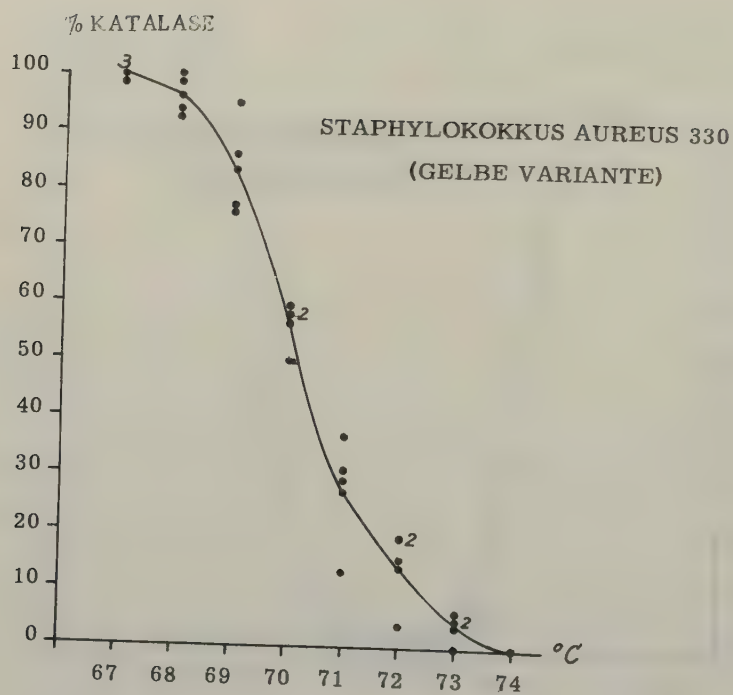


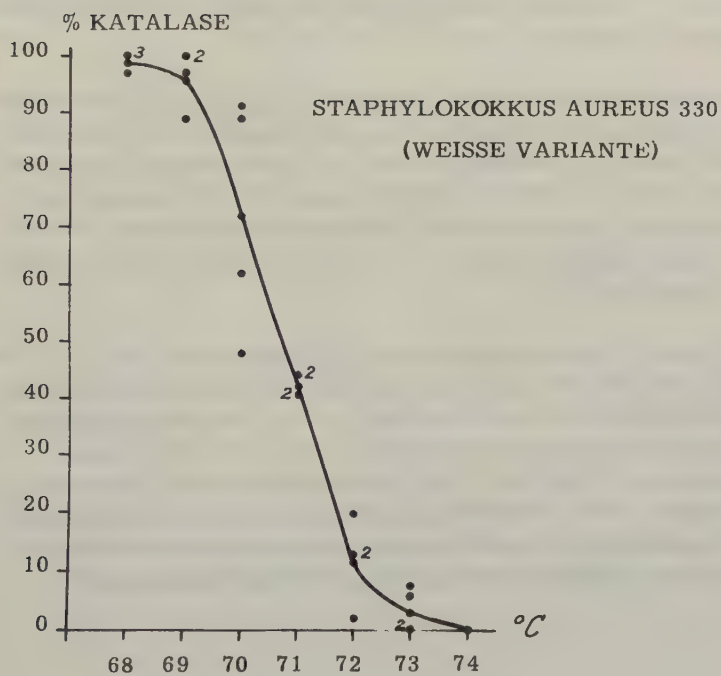








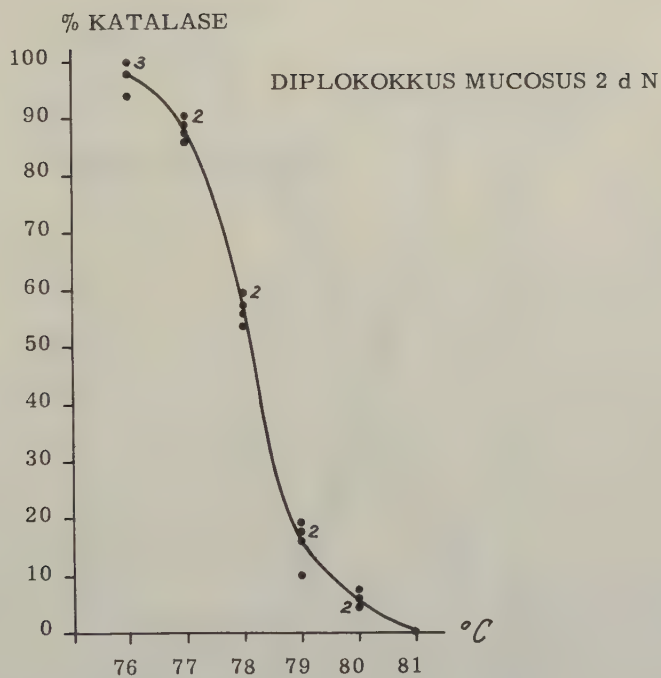


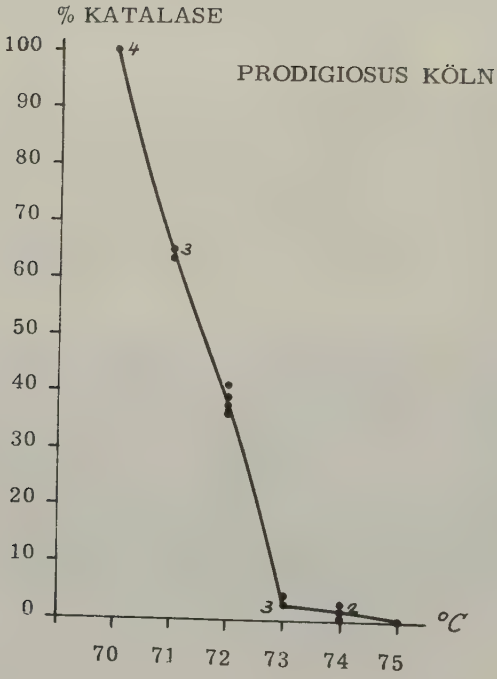


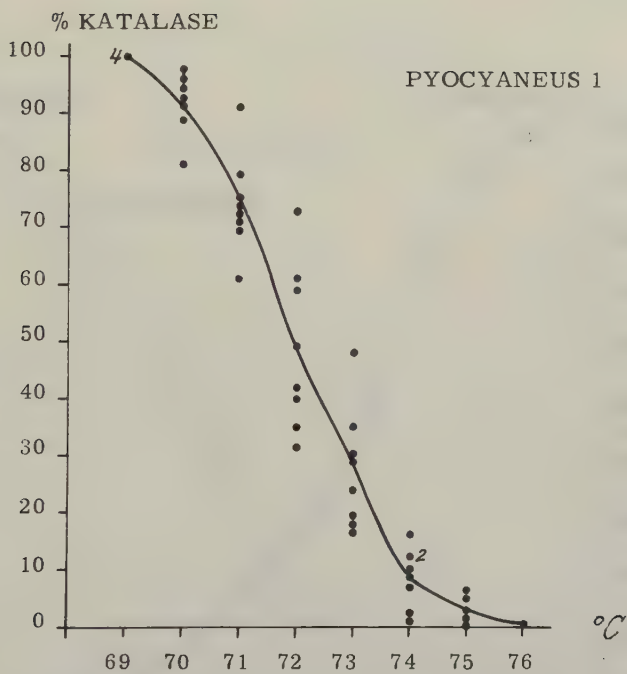
Der als nächster untersuchte Stamm von Diplokokkus mucosus zeigte hohe Katalaseaktivität und eine hohe Resistenz gegenüber Erhitzung. Der Zerstörungsbereich liegt zwischen 76° - 81° C. Die Kurve zeigt zwischen 76° und 77° einen langsamen Abfall, von 76° bis 79° ein rapides Absinken und bis 81° wiederum ein langsames Ausklingen der Katalaseaktivität. Die kritische Temperatur ist also 77° - 79° C.

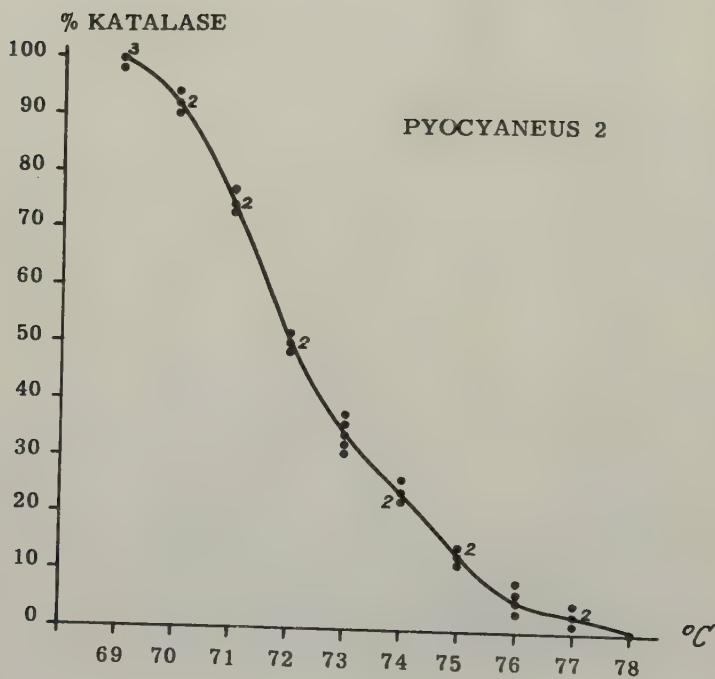
Ein als nächster zur Untersuchung gelangter Prodigious Köln hatte ebenfalls eine hohe Katalaseaktivität. Der Zerstörungsbereich fand sich zwischen 70° und 75° C, also ähnlich dem des *Staphylokokkus aureus*. Die sich ergebende Kurve wies ein etwas abwegiges Bild auf und zwar einen kontinuierlichen, steilen Abfall der Katalaseaktivität zwischen 70° und 73° C bis auf wenige % Katalase, dann eine langsame Zerstörung dieses kleinen Restes bis 75° C.

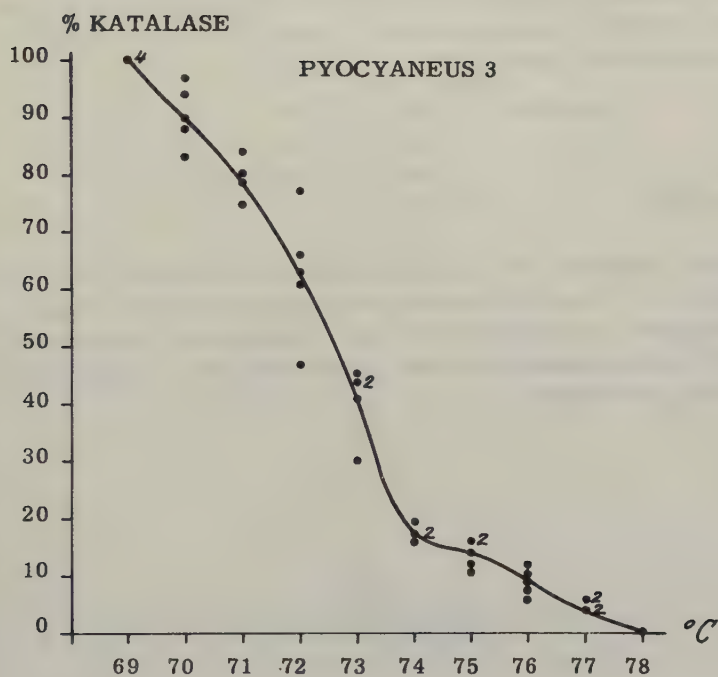
Weiter wurden 3 verschiedene Stämme Pyocyaneus geprüft. Wie alle vorhergegangenen Stämme wiesen auch sie eine hohe Katalaseaktivität auf. Sie unterschieden sich jedoch durch einen relativ breiten Zerstörungsbereich, der bei *Pyocyaneus* 1 zwischen 69° - 76° C, bei *Pyocyaneus* 2 und 3 zwischen 69° und 78° C lag. Die einzelnen Kurven zeigten langsamen Beginn, steiles Absinken in der Mitte und langsames Ausklingen der Katalasezerstörung. Auch hier haben wir wieder eine Übereinstimmung unter den einzelnen Stämmen einer bestimmten Bakterienart.







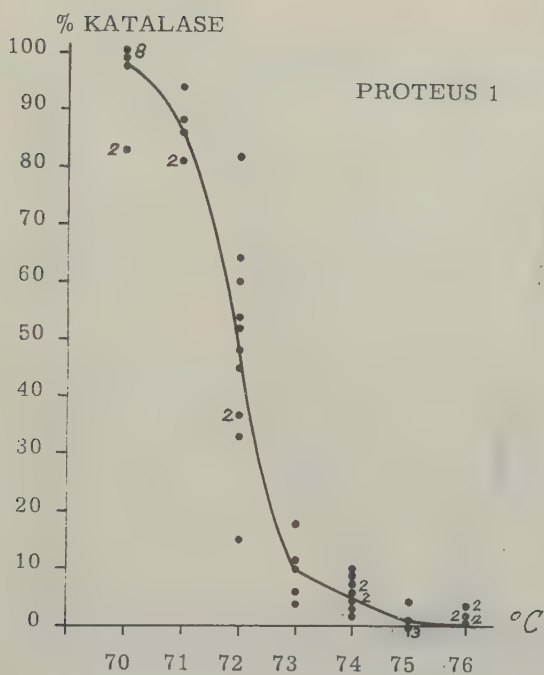


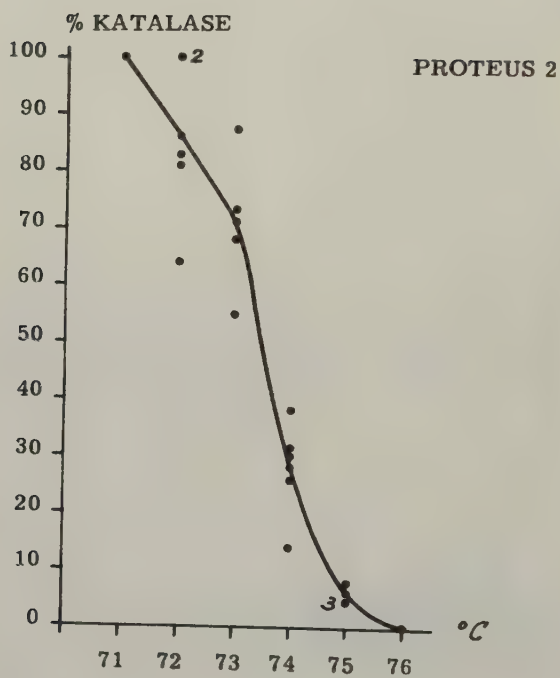


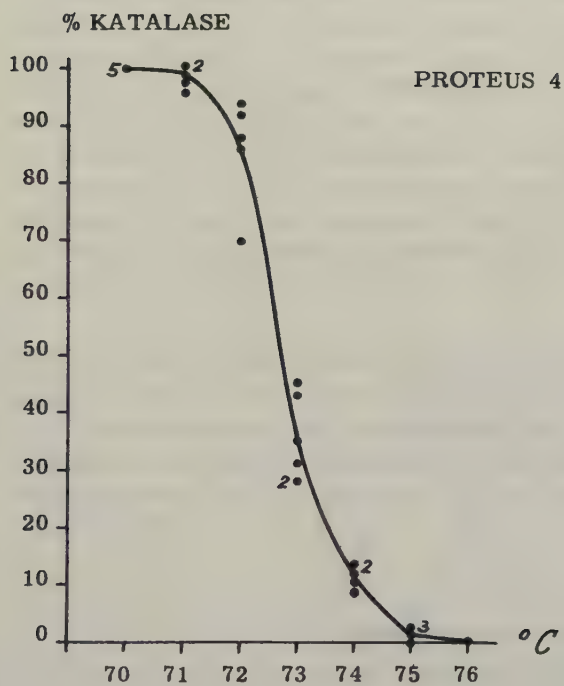
4 verschiedenen Proteusstämmen, die als nächste zur Untersuchung gelangten, wiesen, wie alle vorangegangenen Bakterien eine hohe Katalaseaktivität auf. Der Zerstörungsbereich lag einheitlich zwischen 70° und 76° C. Alle 4 Kurven zeigten das gleiche Bild mit langsamem Beginn der Katalasezerstörung, rapidem Abfall bis auf wenige % des Enzyms und langsame Zerstörung des Restes bis zum 0 - Punkt. Der stärkste Abfall der Katalaseaktivität ergab sich bei

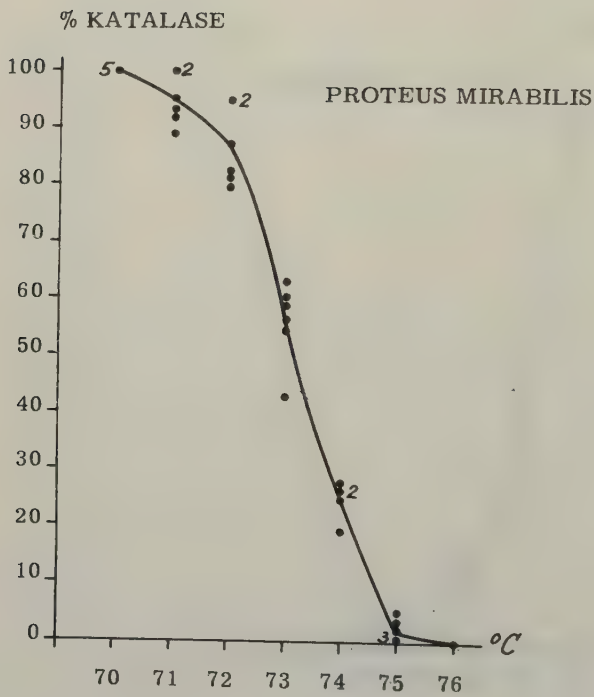
Proteus 1	zwischen	71°	und	73°	C, bei
Proteus 2	"	73°	und	75°	C, bei
Proteus 3	"	72°	und	74°	C, und bei
Proteus mirabilis	"	72°	und	75°	C.

Die kritische Temperatur für alle untersuchten Proteusstämmen kann also generell mit 72° C angegeben werden. Es scheint also auch bei dieser Bakteriengruppe eine einheitliche chemische Struktur der Katalase und ein daraus resultierendes einheitliches Verhalten des Enzyms gegen Hitzeinaktivierung vorzuliegen.



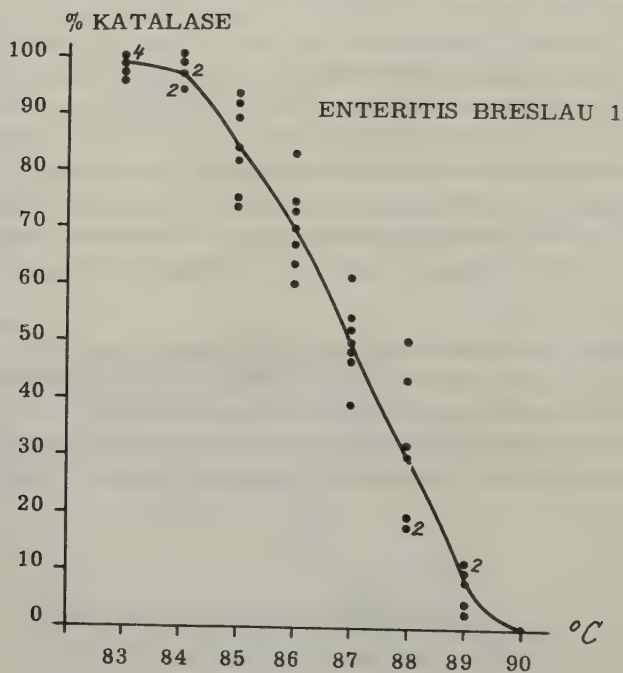


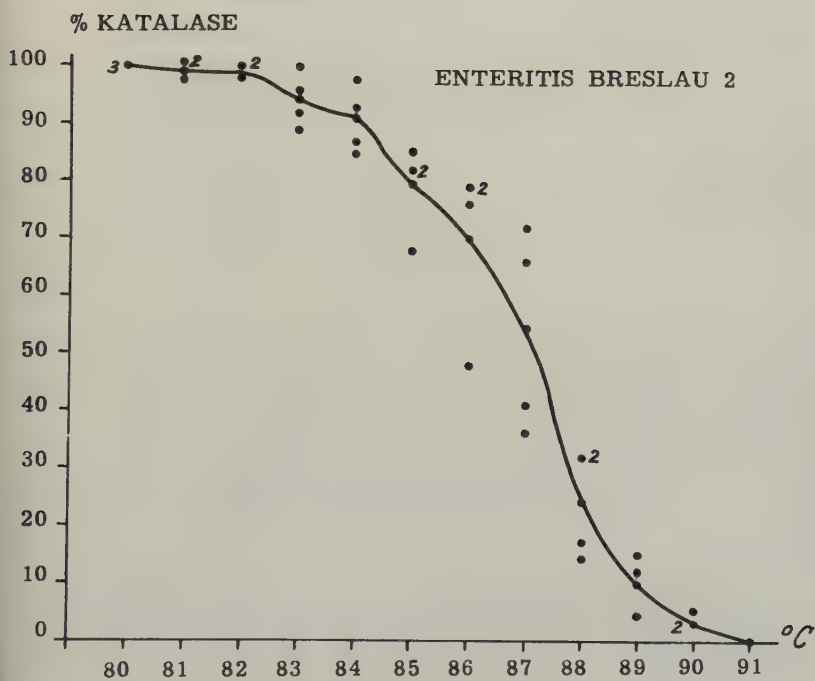


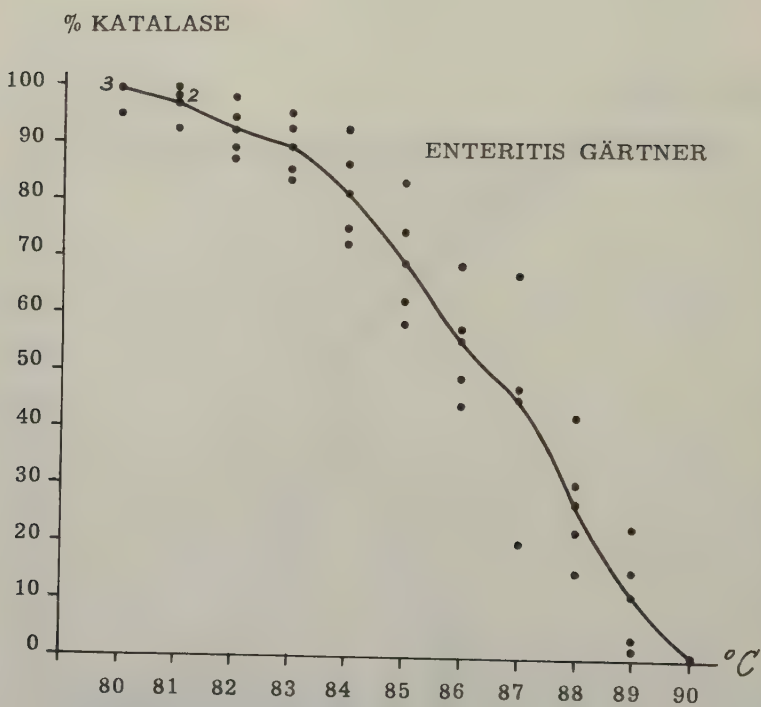


Als nächster Keim wurden nun 2 verschiedene Stämme von Salmonella typhimurium (Enteritis Breslau) untersucht. Sie zeichneten sich durch hohe Katalaseaktivität und überraschend grosse Thermoresistenz aus. Bei einer Temperatur von 82°C wiesen beide Stämme noch nahezu 100 % Katalase auf. Der Zerstörungsbereich lag für Enteritis Breslau 1 zwischen 83°C und 90°C , für Enteritis Breslau 2 zwischen 80°C und 91°C . Kurve 1 zeichnet sich durch einen kontinuierlichen Abfall zwischen 84°C und 89°C aus, Kurve 2 fällt von 80°C bis 84°C nur sehr langsam ab, weist bei 84°C noch über 90 % Katalase auf, zeigt dann von 84°C bis 89°C ein kontinuierliches Absinken der Katalasewerte auf wenige % und eine langsame Zerstörung des Katalaserestes bis zum 0 - Punkt bei 91°C . Zwischen 87°C und 88°C erfolgt der steilste Abfall. Als kritische Temperatur kann bei Enteritis Breslau 1 und 2, 84°C angegeben werden.

Ein im Anschluss daran untersuchter Enteritis Gärtner-Stamm zeigt in seinem Katalaseverhalten keinen Unterschied zu den obigen Keimen. Der Destruktionsbereich liegt ebenfalls zwischen 80°C und 90°C . Die Kurve weist einen sehr kontinuierlichen Abfall innerhalb des gesamten Temperaturbereiches auf. Als kritische Temperatur kann 83°C angesehen werden.

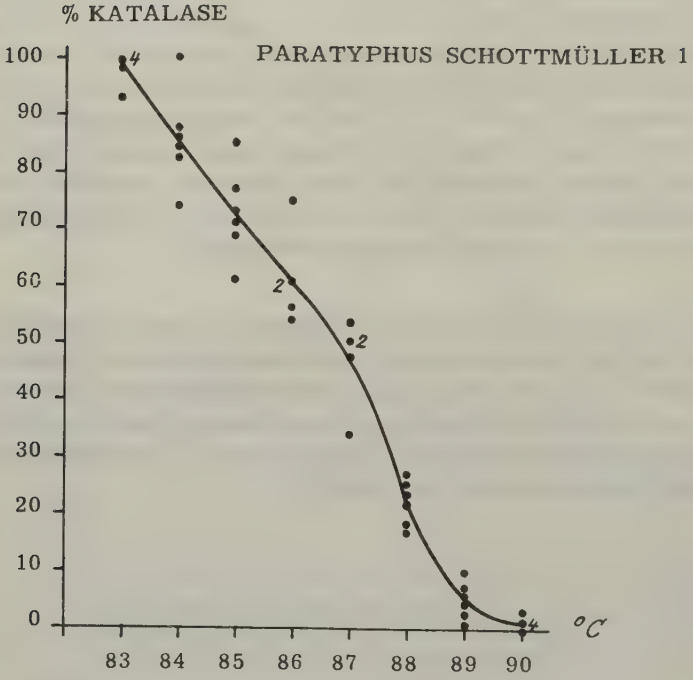


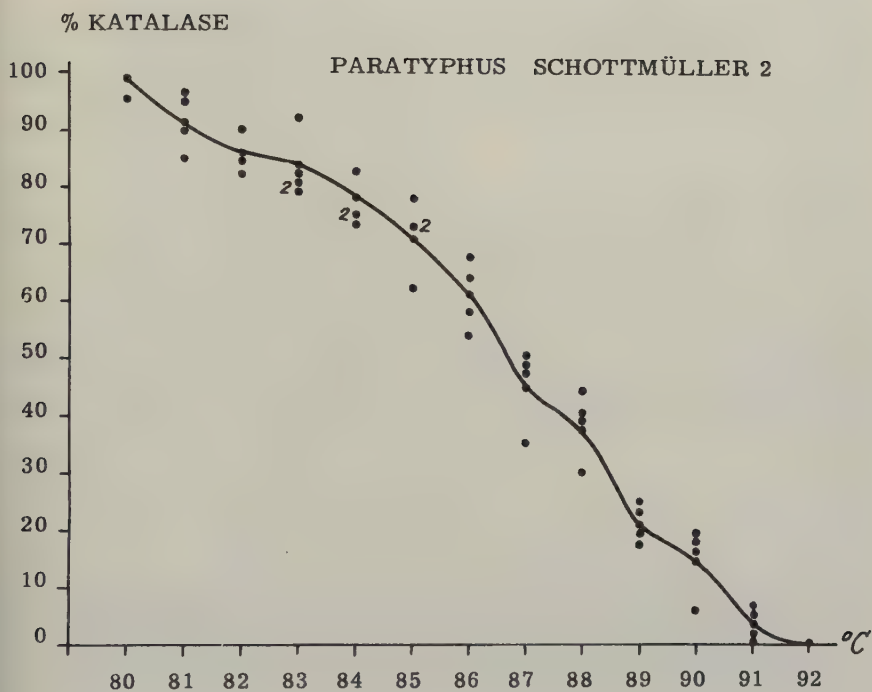


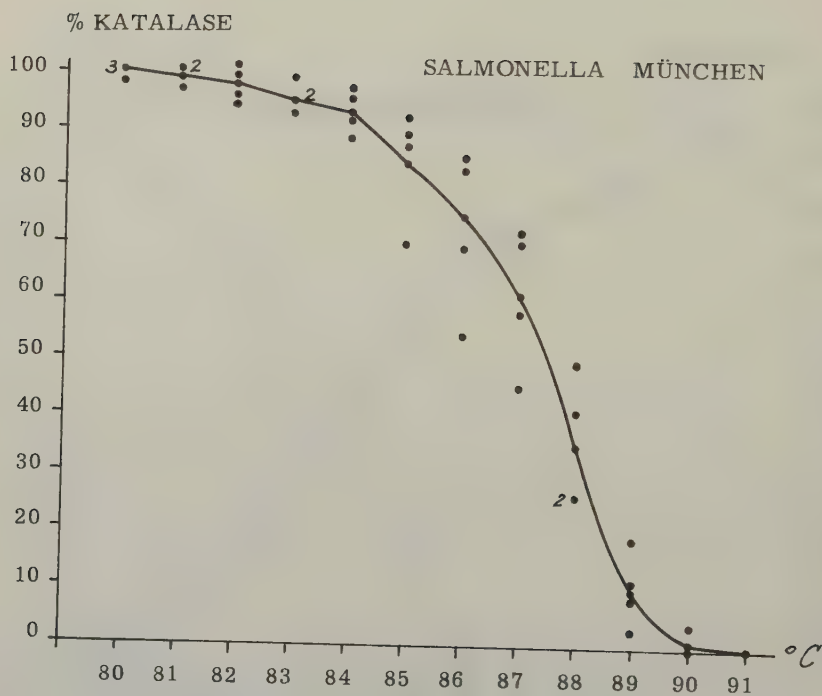


Die zwei nun zur Untersuchung gelangten Stämme von Salmonella schottmuelleri (Paratyphus Schottmüller) weisen einen kleinen Unterschied in der Breite ihres Destruktionsbereiches auf. Bei Paratyphus Schottmüller 1 erstreckt sich dieser von 83° bis 90° C. Die Kurve zeigt einen gleichmässigen Abfall von 83° bis 87° C, eine Phase des steilsten Abfalls zwischen 87° und 89° C und ein langsames Ausklingen auf den 0 - Punkt bei 90° C. Als kritische Temperatur muss also 83° C angenommen werden. Paratyphus Schottmüller 2 zeigt einen Zerstörungsbereich zwischen 77° und 89° C. Die Kurve fällt mit Ausnahme von kleinen Schwankungen kontinuierlich innerhalb dieses Temperaturbereiches ab, eine kritische Temperatur ist schwer anzugeben. Die beiden Stämme von *Salmonella schottmuelleri* wiesen eine weitaus geringere Katalaseaktivität auf als alle bisher untersuchten Bakterien.

Hohe Katalaseaktivität und grosse Thermoresistenz fand sich bei einem Stamm von *Salmonella* München, dessen Zerstörungsbereich zwischen 80° und 91° C lag. Die Kurve zeigt einen unwesentlichen Abfall bis zu 84° , wo noch über 90 % Katalase gemessen wurden. Von 84° bis 89° verringert sich die Katalase auf 10 % und ist bei 91° völlig zerstört. Die kritische Temperatur ergibt sich bei 84° C.



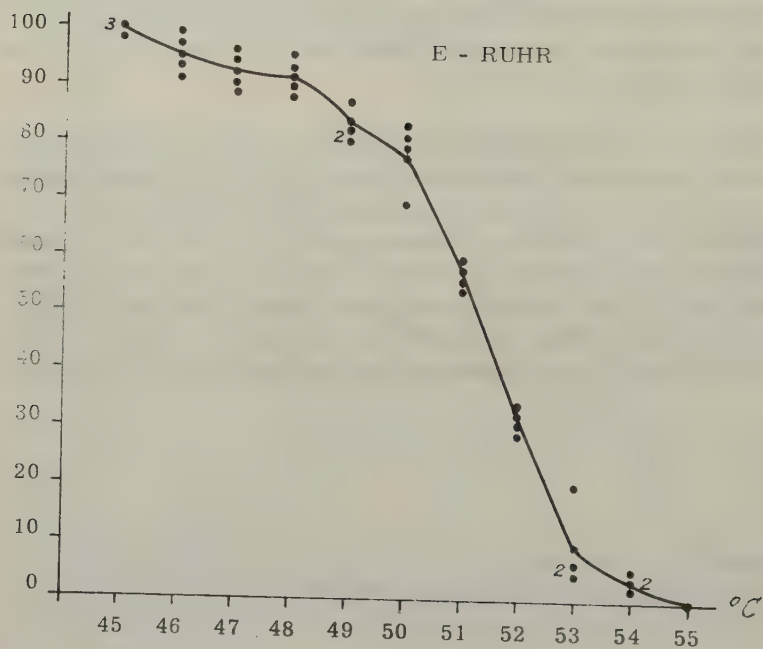


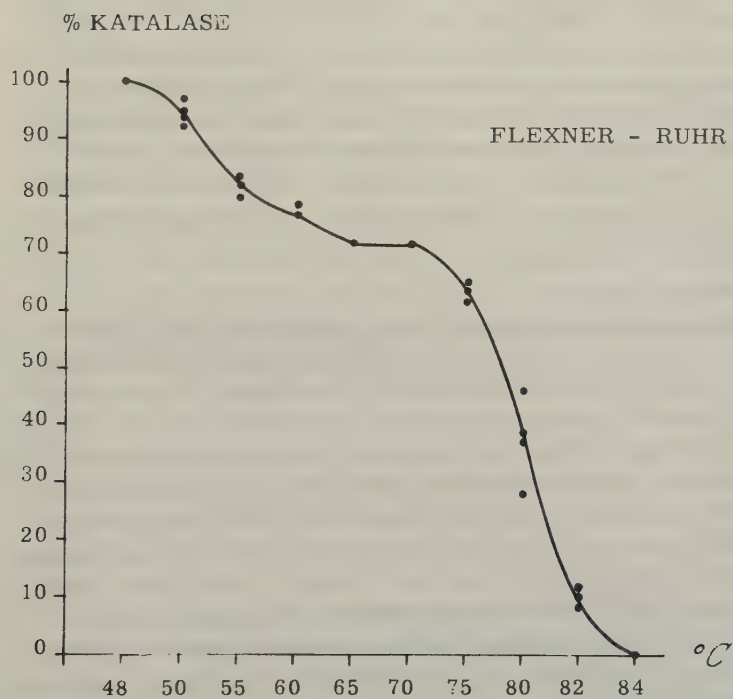


Ein als nächster untersuchter E-Ruhr-Stamm (Shigella sonnei) zeigte eine Zerstörung der Katalase schon bei relativ niedriger Temperatur. Da das Enzym wegen seiner geringen Menge bei der üblichen Konzentration der Bakterienaufschwemmung kaum messbar war, wurden in diesem Falle zur Katalasebestimmung 4 Ösen des Keimmaterials in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Der Zerstörungsbereich ergab sich zwischen 45° und 55° C. Es zeigte sich ein langsames Absinken der Katalaseaktivität bis 50° , ein rapider Abfall zwischen 50° und 53° C und eine vollständige Zerstörung des Enzyms bei 55° C. Die kritische Temperatur ergab sich bei 50° C.

Ein von den anderen Salmonellastämmen abweichendes Bild fand sich bei der Untersuchung eines Stammes der Flexner - Ruhr. Auch hier zeigte sich, wie bei der E - Ruhr, eine relativ geringe Katalaseaktivität. Überraschend ist der breite Zerstörungsbereich, der sich von 48° bis 84° C erstreckt. Die Kurve fällt zwischen 48° und 65° C kontinuierlich von 100 % auf 70 % ab, verbleibt zwischen 65° und 70° auf gleicher Höhe und fällt dann zwischen 70° und 84° C rapid zum 0 - Punkt ab. Es bietet sich hier das Bild einer Zerstörung der Katalaseaktivität in 2 Phasen.

% KATALASE





Den Abschluss bildeten Untersuchungen über eine Reihe von Coli-Stämmen. Da alle Stämme generell nur geringe Katalasemengen enthielten, wurden für die Versuche, ebenso wie bei *Shigella sonnei*, 4 Ösen des Bakterienmaterials in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verwendet.

Der erste der untersuchten Stämme, Escherichia coli 01 K1L H-(7) weist, verglichen mit den vorhergegangenen Versuchsergebnissen, keine Besonderheiten auf. Der Zerstörungsbereich liegt zwischen 48° und 55° C, also relativ niedrig. Nach langsamem Absinken der Katalaseaktivität von 48° bis 50° , wo noch 88 % Katalase vorhanden sind, zeigt die Kurve eine kontinuierliche, rasche Zerstörung des Enzyms zwischen 50° und 54° C. Bei 55° C ist keine Katalase mehr vorhanden. Die aus diesem Versuch entwickelte Katalasekurve überlagert sich fast völlig mit der Kurve von *Shigella sonnei* (E-Ruhr).

Die 6 weiteren Stämme:

Escherichia coli lact., Escherichia coli L₄, Escherichia coli 0 55, Escherichia coli 1, Escherichia coli 2 und Escherichia coli 3 haben einen Zerstörungsbereich von erstaunlicher Breite gemeinsam, der sich von 48° bis 85° C erstreckt. Ausserdem lässt sich, mehr oder minder deutlich, bei allen Stämmen gemeinsam eine Zerstörung der Katalaseaktivität in 2 Phasen beobachten. Zwei Besonderheiten also, die diese Gruppe von allen untersuchten Stämmen nur mit dem Erreger der Flexner-Ruhr gemeinsam hatten. Die Kurve von E. coli lact. fällt von 48° bis 50° nur geringfügig, zwischen 50° und 55° C aber rapid von 92 % auf 35 % ab. Bis 65° findet keine, von 65° bis 75° nur eine unwesentliche Zerstörung des Enzyms statt. Von 75° bis 82° verringert sich die Katalaseaktivität bis auf 6 %, bei 85° ist sie vollständig zerstört. Wir haben also 2 kritische Temperaturgrade bei 50° und 75° C.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei E. coli L₄. Einem geringfügigen Abfall zwischen 48° und 50° folgt ein rasches Absinken der Katalaseaktivität innerhalb von 5 Temperaturgraden auf 29 %. Zwischen 55° und 70° findet keine merkliche Zerstörung statt, ein zweiter Abfall der Kurve erfolgt zwischen 70° und 75° und ein dritter bis zum 0 - Punkt zwischen 80° und 85° C. Entscheidende kritische Temperatur also bei 50° C.

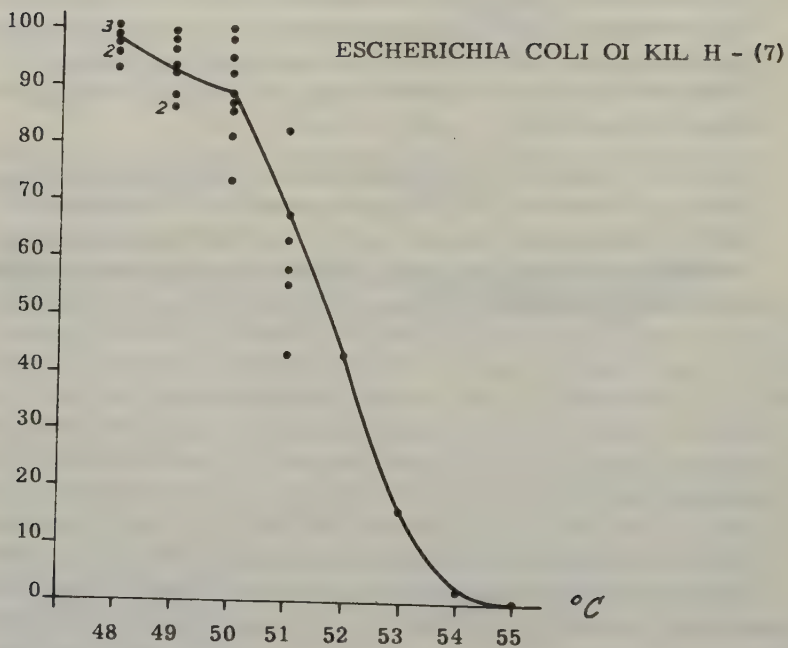
Bei E. coli 55 sinkt die Aktivität des Enzyms zwischen 50° und 54° von 100 % auf 62 %, verbleibt unverändert bis 70° , und fällt dann kontinuierlich bis zum 0 - Punkt bei 85° C ab. Die kritische Temperatur liegt folglich bei 50° C und 70° C.

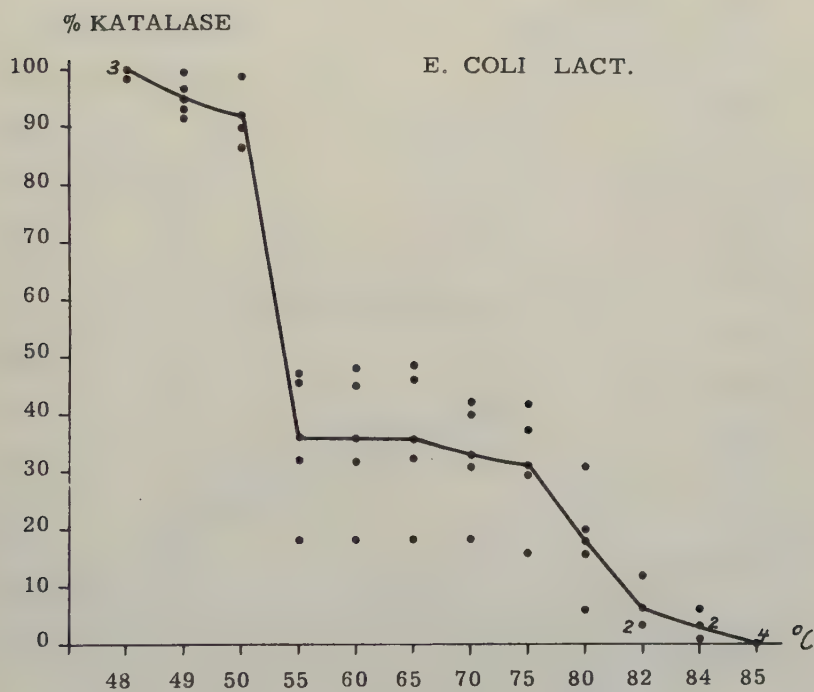
Fast ebenso verläuft der Abfall der Katalaseaktivität bei E. coli 1. Sie verringert sich zwischen 50° und 54° von 98 % auf 56 %. Zwischen 54° und 65° erfolgt keine, zwischen 65° und 70° eine kaum merkliche Zerstörung des Enzyms. Von 75° bis 84° fällt die Kurve gleichmässig bis auf wenige Prozent ab. Bei 85° ist die Katalase völlig zerstört.

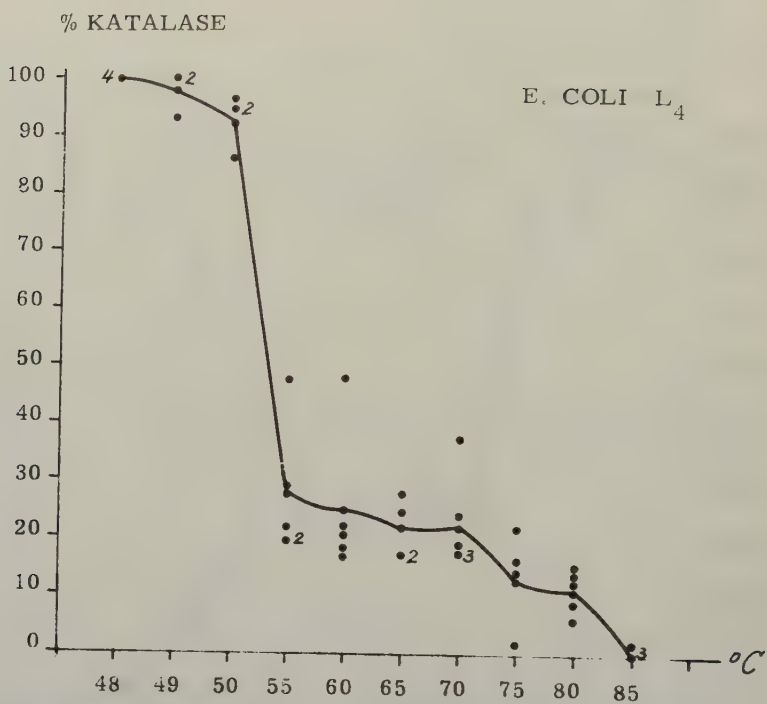
Die Kurve von E. coli 2 fällt zwischen 50° und 55° um unwesentliche 5 %, verbleibt bis zu 70° auf dieser Höhe und sinkt dann kontinuierlich bis zum 0 - Punkt bei 85° ab. Die Zerstörung der Katalase in 2 Phasen tritt hier nicht so deutlich zutage, die kritische Temperatur findet sich bei 70° C.

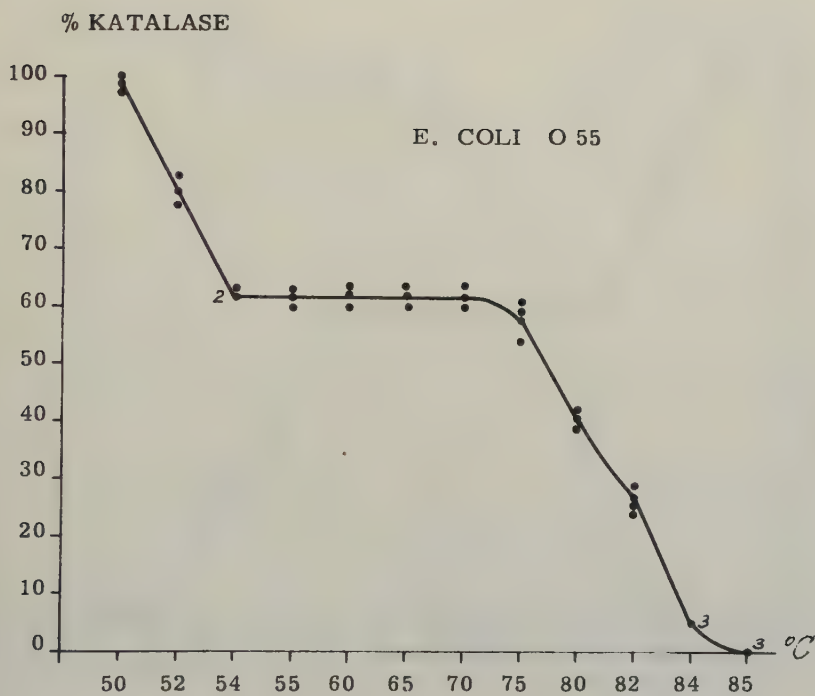
Als letzter Stamm sei E. coli 3 beschrieben, dessen Kurve ähnlich der von E. coli 2 verläuft. Nur geringes Absinken um 10 % zwischen 50° und 55° , Resistenz der Katalase bis 70° . Von hier an gleichmässige Zerstörung des Enzyms, die bei 85° ihren 0 - Punkt erreicht. Kritische Temperatur ist wiederum 70° C.

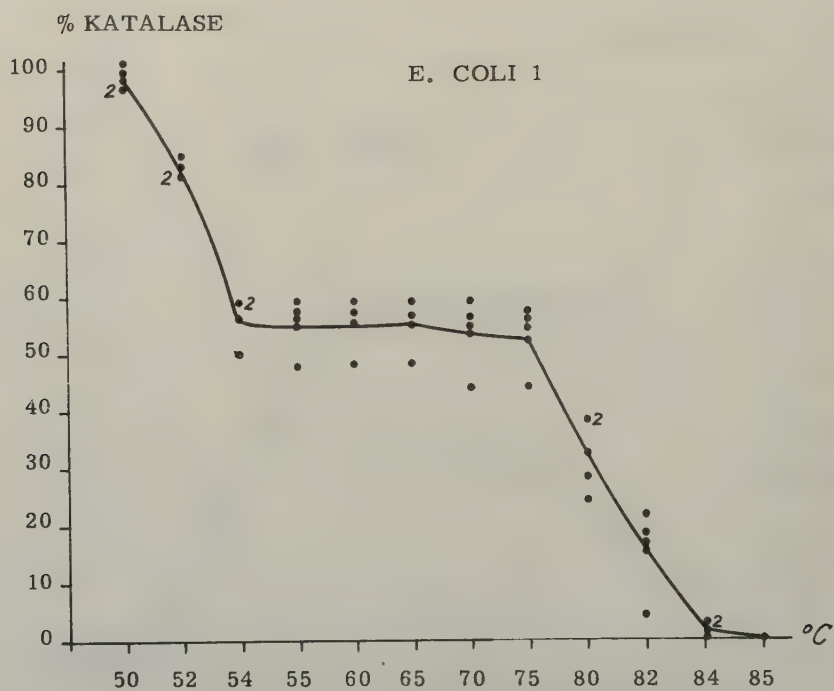
% KATALASE

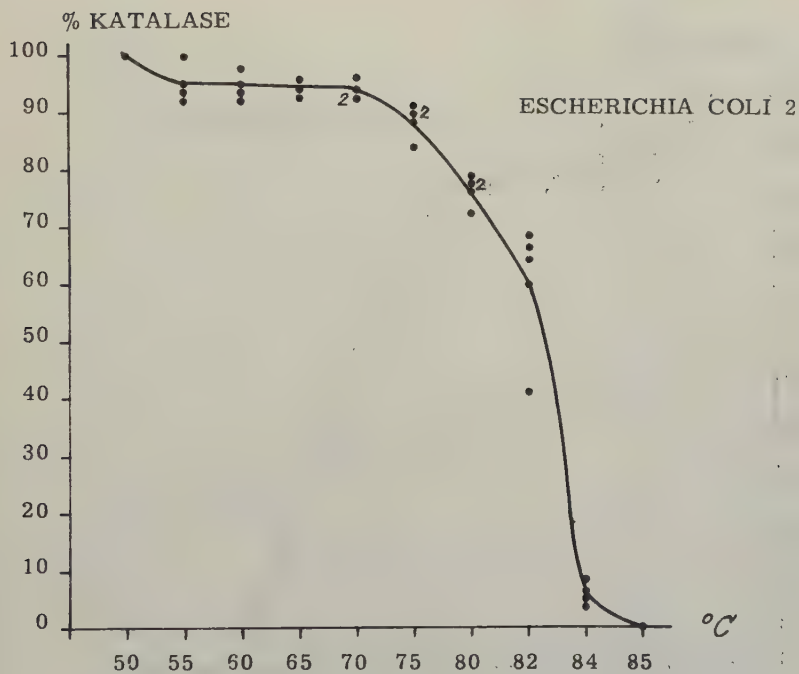


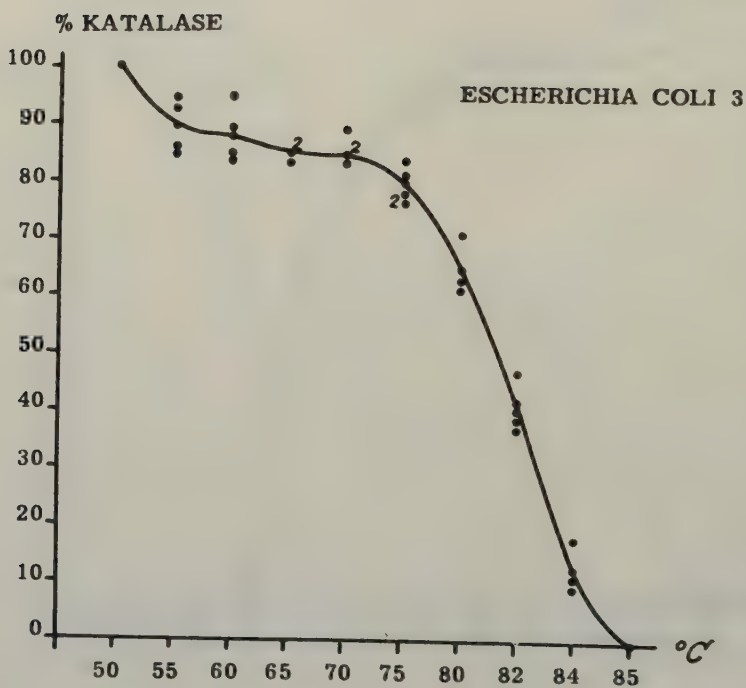






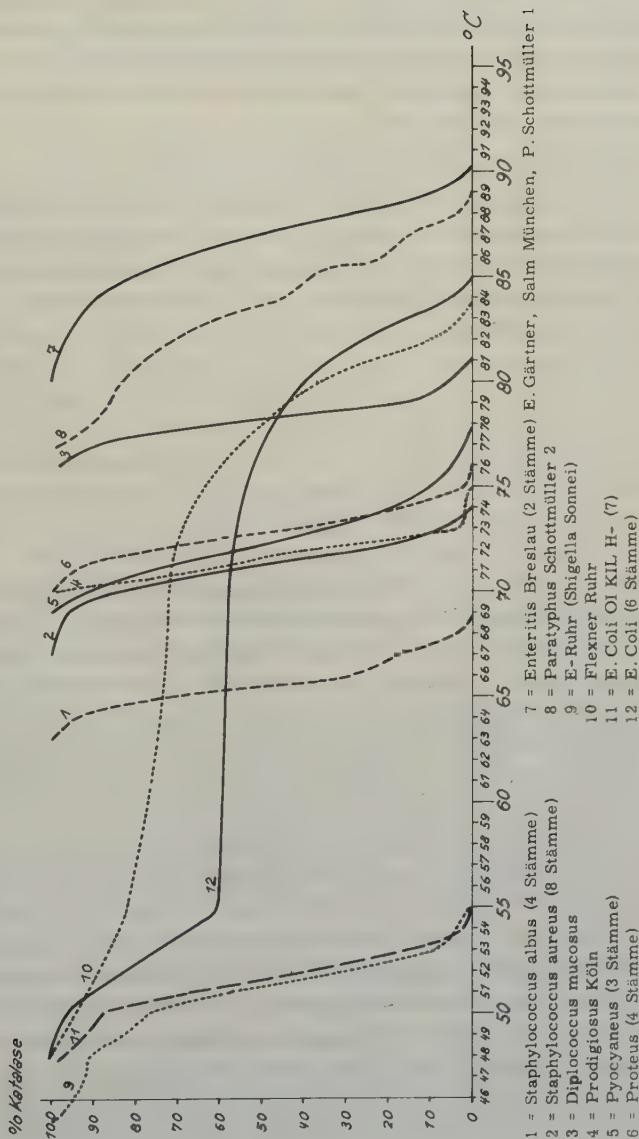






ÜBERSICHTSTABELLE

Über die Kurven bzw. Mittelwertskurven der Katalaseinaktivierung
aller untersuchten Bakterienstämme



In Ergänzung zu den graphischen Darstellungen, die einzeln für jeden zur Untersuchung gelangten Keim entwickelt wurden, sei noch eine Übersichtstabelle beigelegt, die die Kurven aller besprochenen Bakterien im entsprechenden Masstab zueinander vereinigt. Das spezifische Katalaseverhalten der verschiedenen Stämme lässt sich bei dieser Art der Gegenüberstellung besser vergleichen.

Um eine klare Übersicht zu gewinnen, wurden aus den sich auf engem Raum überlagernden Kurven der einzelnen, in ihrem Katalaseverhalten übereinstimmenden Bakteriengruppen die Mittelwertskurven errechnet und diese in die Tabelle eingetragen. Der in seiner Katalasekurve von den übrigen Salmonellen abweichende Paratyphus Schottmüller 2 - Stamm ist gesondert aufgeführt.

IX. DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE

Es ist uns bekannt, dass die Temperatur von allgemeiner Bedeutung für die Enzyme ist und sich in verschiedener Richtung auf das betreffende Ferment auswirken kann. Bereits EULER prägte den Begriff der Destruktionstemperatur als derjenigen, bei der ein Enzym in wässriger Lösung ohne sein Substrat bei optimalem pH nach einer 30 Minuten langen Einwirkung in seiner Aktivität zur Hälfte vermindert wird. Bei Versuchen mit Bakterienkatalase fand STAPP, dass die zur Inaktivierung nötige Temperatur bei verschiedenen Stämmen differierte. Weiterhin befassten sich MORGULIS und BEBER mit der Hitzeinaktivierung der Katalase im allgemeinen. Diese Tatsache war also bereits seit langem bekannt. Neue Gesichtspunkte ergaben sich jedoch durch die Studien von BINGOLD über den Blutfarbstoffwechsel, wobei bisher unbekannte Eigenschaften des Apofermentes aufgedeckt wurden. Die Versuche zeigten, dass die Inaktivierungstemperatur je nach Art des vorliegenden Blutes verschieden war. EULER hatte den Begriff der Destruktionstemperatur für die Fermente im allgemeinen geprägt, auf Grund obiger Erkenntnisse konnte man jetzt von einer spezifischen Zerstörungstemperatur der Katalase sprechen. Durch weitere Versuche von LANG und PAPST wurde die Annahme erhärtet,

dass die unterschiedliche Temperaturlabilität der Katalase in der Spezifität des Katalasemoleküls, speziell des Eiweissträgers begründet liegt. In Verfolgung dieser Arbeiten wurden von BINGOLD und LANG Katalaseuntersuchungen an einer Anzahl verschiedener Bakterienstämme fortgesetzt und erweitert. Es zeigte sich auch hier ein spezifisches Verhalten des Fermentes, jedoch konnte nicht immer von einer gewissen Zerstörungstemperatur, sondern in den meisten Fällen von einem mehr oder minder grossen Zerstörungsbereich gesprochen werden.

Die Aufgabe vorliegender Arbeit war es nun, die durch obige Ergebnisse deutlich bewiesene Verschiedenheit der Temperaturlabilität einzelner Keimarten näher zu beleuchten und die Versuche auf eine grössere Anzahl verschiedener Stämme auszuweiten. Es wurde zuerst mit Hilfe eines Teststammes die Abhängigkeit der Katalaseaktivität von verschiedenen Versuchsbedingungen, wie Zusammensetzung des Nährbodens, Alter der Kultur, Konzentration der betreffenden Bakteriensuspension und Zeitdauer der Erhitzung untersucht. Die schon bei den Versuchen von BINGOLD und LANG geübte Methode der Katalaseuntersuchung wurde dann, unter Ausschaltung der durch die Vorversuche ermittelten, vermeidbaren Fehlerquellen modifiziert und für die Untersuchungen über die Thermolabilität des Enzyms angewandt. Die so entwickelte Methode hat den Vorteil, dass sie leicht zu handhaben ist, keine besonderen Apparaturen dafür erforderlich sind und ferner die damit gewonnenen Ergebnisse eine relativ geringe Fehlerbreite aufweisen.

Bei den zuerst untersuchten *Staphylokokkus albus* Stämmen ergab sich ein gemeinsamer Destruktionsbereich zwischen 63° - 69° C. Die aus 8 *Staphylokokkus aureus* Stämmen ermittelte Mittelwertskurve erstreckt sich zwischen 67° - 74° C, also zwischen ähnlichen Temperaturgraden wie die der *Proteus*arten zwischen 70° - 76° C, der *Pyocyaneus*-Stämme zwischen 69° - 78° C und des *Prodigiosus* Köln, dessen Zerstörungsbereich zwischen 70° - 75° C liegt.

Diese 4 verschiedenen Bakterienarten haben gegenüber allen anderen, zur Untersuchung gelangten Keimen, die Inaktivierung ihrer Katalase in diesem bestimmten Temperaturbereich gemeinsam.

Eine zweite Gemeinsamkeit des Katalaseverhaltens lässt sich bei der *Salmonellagruppe* feststellen. Bei allen 5 Stämmen liegt der Zerstörungsbereich der Katalase zwischen 80° - 91° C, sie weisen also gegenüber

den oben besprochenen Stämmen einer grösseren Temperaturreistenz um rund 10°C auf. eine kleine Abweichung im Sinne einer grösseren Thermolabilität zeigte sich bei *Paratyphus* Schottmüller 2 (zwischen $77^{\circ} - 89^{\circ}\text{C}$), die jedoch bei ihrer Geringfügigkeit unbeachtet bleiben dürfte.

Eine extrem geringe Thermoresistenz zeigte sich bei *Shigella sonnei* (E-Ruhr) und *Escherichia coli* O1 K1L H-(7), deren Katalase schon bei 55°C , also einer im Vergleich zu den anderen Stämmen sehr niedrigen Temperatur zerstört ist.

Eine weitere Sonderstellung nimmt der *Diplokokkus mucosus* ein, dessen Zerstörungsbereich sich von $76^{\circ} - 81^{\circ}\text{C}$ erstreckt, also ungefähr zwischen dem von *Staphylokokkus aureus* und der *Salmonellagruppe* liegt.

Als letztes seien noch die Katalaseinaktivierungskurven von 6 verschiedenen *Coli*-Stämmen und dem Erreger der Flexner Ruhr erwähnt, die in doppelter Hinsicht von allen anderen untersuchten Stämmen abweichen. Es zeigt sich hier erstens ein extrem breiter Temperaturbereich, in dem die Zerstörung des Enzyms stattfindet; dieser erstreckt sich von $48^{\circ} - 85^{\circ}\text{C}$. Zweitens wird die Katalase nicht kontinuierlich, wie zu erwarten wäre, inaktiviert, sondern in zwei voneinander entfernten Phasen, die durch einen breiten Bereich völliger Hitzeresistenz bei einem noch relativ hohen Prozentsatz aktiver Katalase getrennt sind. Der Erregerstamm der Flexner-Ruhr setzt sich dadurch deutlich von den anderen zur Untersuchung gelangten *Salmonella*arten ab, die in ihrem Katalaseverhalten gut übereinstimmen. Seine Katalasekurve weist mit geringen Abweichungen dasselbe Bild wie die Kurve der 6 untersuchten *Coli*-Stämme auf.

Die Zerstörung der Katalase bei den erwähnten *Coli*-Stämmen und dem Erreger der Flexner-Ruhr in 2 Phasen lässt sich vielleicht mit der Annahme erklären, dass sich die Katalase in diesem Falle aus 2 Komponenten zusammensetzt, die eine unterschiedliche Thermoresistenz aufweisen. Die Tatsache, dass sich die Inaktivierung der Katalase bei allen untersuchten Keimen über einen mehr oder minder breiten Temperaturbereich erstreckt, lässt vermuten, dass sich generell die Bakterienkatalase, bzw. der kolloidale Träger, das Apoferment aus mehreren Komponenten mit unterschiedlicher Thermolabilität zusammensetzt.

Eine Erhärtung dieser Annahme mögen die Befunde HACKENTHALS und BIERKOWSKIS bieten, die festgestellt haben, dass der Stamm SG 511 nicht einheitlich ist, sondern sich in 6 Komponenten mit differierenden Eigenschaften zerlegen lässt, die übrigens auch unterschiedliche Penicillinsensibilität besitzen.

Ebenso wie dies bei der Flexner-Ruhr festzustellen war, bietet auch *Escherichia coli* 0 1 K1L H-(7) ein abweichendes Bild. Die Katalasekurve unterscheidet sich wesentlich von den übrigen, sich gleich verhaltenden Coli-Stämmen und weist grosse Ähnlichkeit mit der bei *Shigella sonnei* ermittelten Kurve auf.

Von diesen beiden Ausnahmen abgesehen, scheint es auf Grund der gefundenen Ergebnisse durchaus möglich, einzelne Bakteriengruppen bezüglich ihrer unterschiedlichen, für die jeweilige Art spezifischen Katalaseinaktivierungskurven zu unterscheiden. Ebenso wie dies bei den einzelnen Blutarten der Fall ist, lässt sich eine Differenzierungsmöglichkeit einzelner Bakterien bzw. Bakteriengruppen an Hand der spezifischen Temperaturlabilität ihrer Katalasen aus den angeführten Versuchen ersehen.

Aus den gefundenen Ergebnissen spezifische Eigenschaften der betreffenden Keime ableiten zu wollen, würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten. Zumindest sei die Frage aufgeworfen, ob sich eventuell Beziehungen zwischen Aktivität bzw. Thermoresistenz der Katalase und spezifischen Eigenschaften des betreffenden Keimes, wie etwa Pathogenität, Virulenz und Resistenz gegenüber Chemotherapeutika und Antibiotika usw. finden lassen. Es bleibt auch noch zu untersuchen, ob die gefundenen Unterschiede des Verhaltens ihrer Katalase eine Bedeutung für die Diagnostik einzelner Bakterien haben.

Da es sich bei der Katalase um ein Ferment handelt, das chemisch weitgehend erforscht und dessen Wirkung relativ leicht im Versuch zu beobachten ist, ist sie wohl besonders gut zu Versuchen geeignet, die dazu dienen, die Stoffwechselfunktionen der Zelle weiter aufzuklären.

X. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird zuerst eine Übersicht gegeben über die bisherigen Forschungsergebnisse über Katalase und Bakterienkatalase im Speziellen. Weiterhin wird die chemische Natur des Fermentes, sein Vorkommen und seine Bedeutung im Zellstoffwechsel beschrieben und sein Wirkungsmechanismus an Hand der durch neuere Forschungen entwickelten Reaktionsformeln erklärt. Die Besprechung chemischer und mechanischer Einflüsse auf die Katalaseaktivität leitet zu der eigentlichen Fragestellung der Arbeit, der Thermolabilität des Fermentes über. Wie im experimentellen Teil der Arbeit genau beschrieben ist, werden die einzelnen Bakterinsuspensionen den betreffenden Temperaturgraden auf eine Dauer von 30 Min. ausgesetzt und anschliessend der Katalasegehalt durch Austitrieren mit Kaliumpermanganat bestimmt. Auf diese Weise werden 34 verschiedene Bakterienstämme untersucht, die einzelnen Zerstörungsbereiche ihrer Katalase ermittelt und graphisch in Form von Kurven dargestellt. In Ergänzung dazu ist eine Übersichtstabelle beigelegt, die die Kurven aller untersuchten Keime im entsprechenden Masstab zueinander vereinigt. Es ergeben sich für jede Keimart spezifische Thermoinaktivierungskurven. Weiter kann festgestellt werden, dass die Bakterienstämme innerhalb einer Spezies, mit 2 Ausnahmen, durchweg gut übereinstimmen, während die einzelnen Gruppen in ihrer Katalaseresistenz erhebliche Unterschiede aufweisen.

Die gefundenen Ergebnisse beweisen, dass sich, ebenso wie dies bei den verschiedenen Blutarten in früheren Arbeiten festgestellt wurde, auch für die einzelnen Bakterienarten spezifische Thermoinaktivierungskurven ihrer Katalasen feststellen lassen, und eine Differenzierung einzelner Keime auf diese Weise möglich ist.

XI. LITERATURVERZEICHNIS

Avery, O.T. und H.J. Morgan:

Journ. Exp. Med. 39, 275, 289 (1924)

Avery, O.T. und J.M. Neill:

Journ. Exp. Med. 39, 347, 357, 543, 745
(1924)

Beijernick, M.W.:

Naturwissenschaftl. Rundschau 8, 671 (1893)

Bertho, A.:

Oppenheimer Biochemie Erg.-Bd. I, 2, 740,
842 (1933)

Bingold, K. und W. Lang: Zbl. Bakt. I Orig. 163, 357 - 368 (1955)

Chance, B., Sumner, J. und K. Myrbäck:

"The Enzymes" 440

Dieudonné, A.:

Arbeiten a.d. kaiserl. Gesundheitsamt 9, 405
(1894)

Euler, H.v.:

Spezielle Chemie d. Enzyme II, 3, 1 - 75 (1934)

Euler, H.v. und Hellström:

Liebigs Ann. 452 (1927)

Euler, H.v. und R. Blix: Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie 105,
83 (1919)

Fujita, A. und T. Kodama:

Biochem. Ztschr. 232, 20 (1931)

Gottstein, A.:

Archiv f. path. Anat. u. Physiol. hg. v. Virchow
133, 295 (1893)

Hackenthal und Bierkowski:

Zbl. Bakteriol. I Orig. 162, 160 - 166 (1955)

Hagihara, J.:

Biochem. Ztschr. 140, 171 (1923)

- Hahn, M.: Münchner med. Wochenschr. 44. 1344 (1897)
- Jacoby, M.: Biochem. Ztschr. 88. 35 (1918) 89. 350 (1918)
95. 124 (1919) 92. 129 (1918)
- Jorns, A.: Arch. f. Hyg. 67. 134 (1908)
- Josephson, K.: Oppenheimer Biochem. Erg.-Bd. I, 2. 690 (1933)
- Kirchner, O.: Ztschr. f. Immunitätsforsch. 52. 108 (1927)
- Kluyver, A. J.: Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiolog. Chem. 138. 100 (1924)
- Lang, W. und H. W. Pabst:
Klin. Wochenschr. 29. 774 - 777 (1951)
- Loew, O.: U. S. Departm. of Agricult. Report 68 (1901)
- Loew, O.: Centralbl. Bakt. II, 10. 177
- Löwenstein, E.: Wiener klin. Wochenschr. 16. 1393 (1903)
- Maximowitsch, S. M. und E. S. Awtonomowa:
Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 174. 233 (1928)
- Mc Leod, I. W. und J. Gordon:
Biochem. Journ. 16. 499 (1922)
- Mc Leod, I. W. und P. Govenlock:
The Lancet 200. 900 (1921)
- Molland: "Bacterial Catalase" (Kopenhagen 1947)
- Morgulis, S. und Beber: Journ. Biol. Chem. 77. 118 (1928)
- Orla-Jensen, S.: Zentralbl. Bakt. II 18. 211 (1907)
- Orla-Jensen, S.: Det Kgl. Danske Vidensk. Selsk Forhandl. (1906) Nr. 5
- Riederer v. Paar: Diss. München 1953
- Rywowz, D.: Zentralbl. Physiol. 21. 65 (1907)

- Rywosz, D. und M. Rywosz:
Zentralbl. Bakt. I 44. 295 (1907)
- Schlunk, F.:
Zentralbl. Bakt. I 92. 116 (1924)
- Seligmann, E.:
Ztschr. f. Hyg. 50. 97 (1905)
- Spiro, K.:
Münchener med. Wochenschr. 62. 497 (1915)
- Stapp, C.:
Zentralbl. Bakt. I, 92. 161 (1924)
- Stern, K.:
Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 209.
176 (1932)
- Stern, K.:
Journ. of biol. Chem. 121. 561 - 572 (1937)
- Takahara, S.:
Lancet 263. 1101 (1952)
- Theorell, H.; Sumner, J. und K. Myrbäck:
"The Enzymes" 404
- Virtanen, A.J.:
Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 134.
300 (1924)
- Virtanen, A.J.:
Acta chemica Fennica 6. 14 (1931)
- Virtanen, A.J. und H. Karström:
Biochem. Ztschr. 161. 9 (1925)
- Virtanen, A.J. und A.O. Winter:
Biochem. Ztschr. 197. 210 (1928)
- Wieland, H.:
Berichte d. Deutschen Chem. Ges.
45. 484, 679, 2606 (1912)
46. 3327 (1913)
47. 2085 (1914)
54. 2353 (1921)
- Yamasaki, E.:
Sci. Rep. of Zohoku Univ. Sendri 9. 13 (1921)
- Zeile, K.:
Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 263.
181 - 186 (1940)
- Zeile, K.:
Oppenheimer Biochemie Erg. -Bd. I, 1. 553
(1933)

Herrn Oberarzt Priv. Doz. Dr. med. W. LANG bin ich für die Überlassung des Themas, die Übernahme des Referates und die mir während der Abfassung der Arbeit zuteil gewordene freundliche Unterstützung besonders zu Dank verpflichtet.

L E B E N S L A U F

Am 27.7.1934 wurde ich als Tochter des Zahnarztes Anton Böhm und seiner Ehefrau Walburga, geb. Schmidbauer in München geboren. Nach 4-jährigem Besuch der Volksschule in München und Unterwössen/Obb., wohin unsere Familie 1943 evakuiert wurde, trat ich im Januar 1946 in das Landschulheim Marquartstein/Obb. ein. Im Herbst 1948 wechselte ich von dort zur Klenze-Oberrealschule in München über, an der ich im Juli 1952 mein Abitur bestand. Im November desselben Jahres immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München für das Studium der Zahnmedizin. Nach 4 Semestern bestand ich hier mein Physikum und nach dem achten Semester im Herbst 1956 das Staatsexamen für Zahnmedizin. Nach einer dreimonatlichen Volontärassistentenzeit an der chirurgischen Abteilung der Münchner Universitätszahnklinik trat ich in die Praxis meines Vaters über. Von Oktober 1957 bis Februar 1958 arbeitete ich als Assistentin in der Zahnklinik am amerikanischen Flughafen Erding. Seit Auflösung der dortigen Zahnstation bin ich wieder in der väterlichen Praxis tätig.

